

Aus der Chirurgischen Klinik und Poliklinik  
des Klinikums Charlottenburg  
der Freien Universität Berlin

Ärztlicher Direktor:  
Professor Dr. med. Emil-Sebastian BÜCHERL

**Die Entwicklung und Prüfung der  
Ohrkammermethode zur Untersuchung der  
Mikrozirkulation bei Kälbern mit  
Totalherzersatz**

Inaugural-Dissertation  
zur  
Erlangung der medizinischen Doktorwürde  
an den  
medizinischen Fachbereichen  
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von  
**Andreas S. Lübbe**  
Hamburg

*1985*



Digitized by the Internet Archive  
in 2026

[https://archive.org/details/IA41548822\\_0043](https://archive.org/details/IA41548822_0043)



Druck: Copy-Center in Dahlem

Ladenbergstraße 2-4

1000 Berlin 33

Tel. 821 10 57

Aus der Chirurgischen Klinik und Poliklinik des Klinikums Charlottenburg  
der Freien Universität Berlin

Ärztlicher Direktor : Professor Dr. med. Emil-Sebastian B Ü C H E R L

---

Die Entwicklung und Prüfung der Ohrkammermethode zur Unter-  
suchung der Mikrozirkulation bei Kälbern mit Totalherzersatz

Inaugural - Dissertation  
zur  
Erlangung der medizinischen Doktorwürde  
an den  
medizinischen Fachbereichen der Freien Universität Berlin

vorgelegt von  
Andreas S. L ü b b e  
Hamburg

Referent : Professor Dr. med. E. S. B ü c h e r l

Korreferent : Professor Dr. med. H. D. S c h m i d t

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche  
der Freien Universität Berlin

Promoviert am 4. Juli 1985

Für die Überlassung des Themas, das ständige Interesse und die stetige wohlwollende Förderung dieser Arbeit möchte ich an dieser Stelle Herrn Professor Dr. med. E. S. Bücherl meinen sehr herzlichen Dank sagen.

Besonderer Dank gilt auch Frau P.D. Dr. med. I. Warnecke für die unermüdliche Betreuung, die wissenschaftliche Anleitung und ständige Bereitschaft zur Diskussion.

Herrn Professor Dr. med. H. D. Schmidt danke ich für die Übernahme des Korreferates und insbesondere für die schnelle Durchsicht der Arbeit.

Ohne die Mitarbeiter des Institutes für Experimentelle Chirurgie im Klinikum Charlottenburg wäre diese Dissertation nicht entstanden. Ihrer technischen und organisatorischen Unterstützung und der durchweg interessierten Gesprächsbereitschaft bin ich zu Dank verpflichtet.

Stellvertretend für andere seien hier erwähnt :

Herr Dünzel für die Tierhaltung (Kaninchen),

Herr Franke für die Fotoarbeiten,

Herr Dr. Hennig, Herr Frank, Herr Zarnack, Herr Baer, Herr Lehnert,

Frau Dr. Krumm für die kritische Durchsicht des Manuskriptes,

Herr Dr. Meißler für die veterinärmedizinische Versorgung (Kälber),

Herr Mudra für die grafische Aufarbeitung,

Herr Sintke für die Werkstatt,

Schwester Ursula für die operative Assistenz.



INHALTSVERZEICHNIS

|                                                                     | <u>Seite</u> |
|---------------------------------------------------------------------|--------------|
| I. EINLEITUNG                                                       | 6            |
| II. METHODIK                                                        | 9            |
| A. Morphologische Untersuchungen an Ohren von Kälbern und Kaninchen | 9            |
| B. Ohrkammerimplantation am Kalb                                    | 9            |
| 1. Tiermaterial, Implantationstechnik und Dokumentation             | 9            |
| C. Ohrkammerimplantation am Kaninchen                               | 10           |
| 1. Tiermaterial, Versuchsaufbau und Dokumentation                   | 10           |
| 2. Das Ohrkammermodell                                              | 12           |
| 3. Implantationstechnik                                             | 15           |
| III. ERGEBNISSE                                                     | 16           |
| A. Morphologische Untersuchungen an Ohren von Kälbern und Kaninchen | 16           |
| B. Ohrkammerimplantation am Kalb                                    | 16           |
| 1. Implantationstechnik                                             | 16           |
| 2. Verlaufsbeobachtungen                                            | 16           |
| C. Ohrkammerimplantation am Kaninchen                               | 20           |
| 1. Implantationstechnik und Einheilungsrate                         | 20           |
| 2. Biokompatibilität der Ohrkammer                                  | 20           |
| 3. Gefäßeinsprossung in die Ohrkammer                               | 22           |
| 4. Mikroskopische Untersuchungen                                    | 25           |
| 5. Auswirkungen von vasoaktiven Medikamenten, Sauerstoff und Wärme  | 38           |
| 6. PO <sub>2</sub> - Messungen in der Ohrkammer                     | 49           |
| IV. DISKUSSION                                                      | 51           |
| V. ZUSAMMENFASSUNG                                                  | 59           |
| VI. LITERATURVERZEICHNIS                                            | 60           |

## I. EINLEITUNG

In der zweiten Epistel an seinen Lehrer, den Iatrophysiker Borelli, beschrieb Marcello Malphigi 1661 als erster, daß der arterielle und venöse Kreislauf durch kleine Blutgefäße, die er Kapillaren nannte, verbunden seien (33). Diese Erkenntnisse basierten auf Beobachtungen an der Froschlunge und bildeten die Grundlage für die Erforschung der Mikrozirkulation. Wenige Jahre später konnte van Leeuwenhoek, ein Zeitgenosse Malphigis, durch seine Befunde an Fledermäusen, Fröschen und Kaulquappen die Kontinuität zwischen arteriellen und venösen Gefäßen auch an anderen Organen bestätigen (30).

Vitalmikroskopische Untersuchungen der Mikrozirkulation waren jedoch über 200 Jahre lang nur an Kaltblütern möglich. Erst mit der Irrigationstechnik von Thoma, der Berieselung freigelegten Gewebes mit körperwarmer physiologischer Kochsalzlösung, waren ab 1878 Experimente an Warmblütern durchführbar (50). Von dem Zeitpunkt an konnte die Mikrozirkulation höherer Lebewesen erforscht werden. Im 20. Jahrhundert entwickelten A. Krogh und B. W. Zweifach neue methodische Verfahren, durch die immer exaktere anatomische Strukturgliederungen getroffen werden konnten (28/58). Sie lenkten auf die funktionelle Bedeutung, die diesem Abschnitt des Kreislaufes zukommt.

In der terminalen Strombahn vollziehen sich die eigentlichen Austauschprozesse zwischen Blut und interstitiellem Raum (21). Dabei lassen sich Diffusion, Filtration und Reabsorptionsvorgänge nachweisen. Durch Änderungen des Strömungswiderstandes erfolgt im wesentlichen die Anpassung des regionalen Flusses an die verschiedenen funktionellen Bedürfnisse, denen Organe unterliegen können. Zahlreiche Metabolite, Sauerstoff und andere Gase beeinflussen den Kontraktionszustand der Gefäßmuskulatur (18). Auch die Vasomotion im Bereich der Arteriolen, Metarteriolen und präkapillären Sphinkteren wirkt sich auf die Funktion des gesamten Herz-Kreislaufsystems entscheidend aus (23).

Ob diese physiologischen Abläufe auch im terminalen Strombett von Versuchstieren nach einem Herzersatz durch eine künstliche Blutpumpe erhalten bleiben, ist bisher nicht unter Lebendbedingungen untersucht worden. Das neue Pumpsystem muß, wie auch das natürliche Herz, die Endstrombahn aller Körperbereiche ausreichend mit Blut versorgen. Bisher deuteten pathomorpholo-

gische Untersuchungen daraufhin, daß dieses gewährleistet sei (52); doch die hierbei erkennbaren Endzustände ließen nur indirekt Rückschlüsse auf die vitale Versorgung zu. Daher wurde nach einer Methode gesucht, die in-vivo Studien der terminalen Strombahn gestattete. Von Interesse waren insbesondere typische morphologische Merkmale und funktionelle Zustände der Endstrombahn, wie Gefäßarchitektur, Angiogenese und Strömungsverhalten der Blutzellen. Um das Tier nicht durch eine aufwendige Versuchsanordnung zu gefährden, sollte ein einfaches Modell zur Darstellung der Mikrozirkulation gefunden werden, das zur Langzeitbeobachtung geeignet, in der Herstellung unkompliziert und preiswert sei. Außerdem waren pharmakologische und thermodynamische Experimente und Messungen, wie zum Beispiel des Sauerstoffpartialdruckes, vorgesehen. Diesen Anforderungen schien das sogenannte Ohrkammermodell zu genügen, welches nahezu physiologische Kapillarverhältnisse der Beobachtung von außen zugänglich macht (16/53).

Dazu wird eine transparente Kammer in das äußere Ohr eines Tieres implantiert, in deren Innenraum neues Gewebe mit allen Anteilen der Endstrombahn einwächst, "round-table-chamber", oder in den bereits vorhandenes subkutanes Gewebe für mikroskopische Beobachtungen eingeschlossen wird, "preformed-tissue-chamber" (41). Maximow konstruierte 1902 als erster eine Kammer aus Zelluloid, die er zunächst unter die Haut oder zwischen Muskeln von Versuchstieren implantierte (36). Nachdem in den nächsten Wochen Fibroblasten, Blutzellen und Kapillargewebe den schmalen Kammerspalt gefüllt hatten, wurden die Kammern in unterschiedlichen Zeitabständen explantiert und das noch lebende Gewebe unter dem Mikroskop beobachtet. Kontinuierliche Langzeituntersuchungen konnten auf diese Weise nicht durchgeführt werden, weil das zu mikroskopierende Gewebe von der arteriellen Zufuhr abgeschnitten und die Dauer der Beobachtung auf ein bis zwei Stunden limitiert war (46). Auf Vorschlag von Clark änderte Sandison 1924 diese Technik, indem er zunächst zwei Stücke Glimmer an vier Ecken in einem Abstand von 20  $\mu\text{m}$  in den äußeren Ohren von Kaninchen zusammenklebte und dort für Langzeitstudien mit Nähten fixierte (46). Der neue Implantationsort und eine andere Operationstechnik bewirkten Stabilität der Kammer im Ohr und ermöglichten mit Hilfe der Durchlichttechnik, diese Ohrkammern ohne vorherige Explantation zu mikroskopieren. Die Hauptprobleme der Kammertechnik ergaben sich durch Infektionen, Austrocknung und Retraktion des die Kammer umgebenden Gewebes (41). In den folgenden Jahrzehnten wurden die Ohrkammern

weiterentwickelt und verbesserte Modelle an unterschiedlichen Species und verschiedenen Körperstellen eingesetzt und getestet (1/5/9/38). Die "round-table-chamber" stellte dabei ein häufig verwendetes Modell dar, in deren 20 bis mehr als 100  $\mu\text{m}$  tiefen Innenraum neues reparatives Granulationsgewebe von der perichondralen Schicht des äußeren Ohres einwuchs. In Bezug auf schnelle Vollvaskularisation des Kammerinnenraumes und verminderte Infektionstendenz stellte die miniaturisierte Ohrkammer von Leaf und Zarem 1969 einen der unkompliziertesten Entwürfe dar (29). Der Vorteil einer solchen "round-table-chamber" lag in dem sehr dünnen und damit unter hoher Vergrößerung zu beobachtenden Gewebe (41). Wachstum von Blut- Lymphgefäßen und Nerven konnte cinematographisch aufgezeichnet werden (17). Vorzüglich erwiesen sich die Kammern hinsichtlich des Beobachtungszeitraumes. War eine Ohrkammer eingewachsen und zeigte sich in ihr Gefäßwachstum, dann konnten Langzeitstudien viele Monate hindurch stattfinden (54).

Untersuchungen mit der Ohrkammer bei Kälbern sind bisher nicht durchgeführt worden. In der vorliegenden Arbeit sollte daher geprüft werden, ob diese Methode zur in-vivo Beobachtung auch bei diesen Tieren verwendet werden kann.

## II. METHODIK

### A. Morphologische Untersuchungen an Ohren von Kälbern und Kaninchen

Vergleichende postmortale Untersuchungen wurden an jeweils 16 Kälber- und Kaninchenohren durchgeführt. Diese bezogen sich insbesondere auf die Dicke und die Möglichkeit der Präparation der einzelnen Schichten.

Die Schichtdicke der Innenhaut, des Knorpels und der Außenhaut der Ohren wurde an einer für die Ohrkammerimplantation geeigneten Stelle mit einer Schiebelehre bestimmt.

### B. Ohrkammerimplantation am Kalb

#### 1. Tiermaterial, Implantationstechnik und Dokumentation

Bei sieben Kälbern der Jersey-Rasse mit einem Gewicht zwischen 65 bis 75 kg wurden neun Ohrkammern eingesetzt. Die erste war eine Originalplexi-glaskammer nach Matlaga, die folgenden Ohrkammern wurden aus Polyoxymethylen (Delrin<sup>R</sup>) anhand dieses Modelles modifiziert (34). Die Implantation erfolgte bei drei Tieren 15 Minuten nach der Gabe von 0,2 mg/kg Körpergewicht intramuskulär injiziertem Xylazin (Rompun<sup>R</sup>), bei vier Tieren in Inhalationsnarkose, in der anschließend der Totalherzersatz durchgeführt wurde.

Mit einer Stanze wurden alle Schichten des Ohres durchlocht, an der Ventralseite die Innenhaut im Durchmesser von 40 mm stumpf vom Knorpel gelöst und im Ohrkammerdurchmesser reseziert. Anschließend ist der Stecker im Bereich der medianen Knorpelleiste durch das Loch geführt und das Dacronnetzgewebe unter die kreisförmig gelöste Haut geschoben worden. Postoperativ wurden die eingesetzten Ohrkammern täglich beobachtet und die lokalen Veränderungen bei auffälligem Aspekt fotografisch dokumentiert.

Bei einem Kalb ohne Kunstherz (Protokoll-Nummer 82/2/1) gelangte zwei und drei Wochen post implantationem eine Ohrkammer zur mikroskopischen Untersuchung. Das Tier wurde zu diesem Zweck mit 0,15 mg/kg Körpergewicht Xylazin intramuskulär sediert und das in die Kammer eingewachsene Gewebe mit dem Mikroskop über eine unter C. 1. beschriebene Videokette aufgezeichnet.

## C. Ohrkammerimplantation am Kaninchen

### 1. Tiermaterial, Versuchsaufbau und Dokumentation

Als Versuchstiere sind 38 Kaninchen der Sandy-Lop-Bastardklasse ausgewählt worden, die zwischen drei und vier Monate alt waren und bei einem Gewicht von drei Kilogramm in Einzelkäfigen gehalten wurden.

Unter Narkose mit einem Injektionsgemisch von 35 mg/kg Körpergewicht Ketaminhydrochlorid (Ketanest<sup>R</sup>) und 3 mg/kg Körpergewicht Xylazin (Rompun<sup>R</sup>), wurden den Tieren 75 Ohrkammern implantiert.

Eine Infektionsprophylaxe wurde mit 70 mg/kg Körpergewicht pro die intramuskulär verabreichtem Cefalozin (Gramaxin<sup>R</sup>) über die ersten fünf postoperativen Tage durchgeführt.

Zur mikroskopischen Untersuchung sind die Tiere durch das Einwickeln in ein Tuch immobilisiert worden. Mit Hilfe einer speziell konstruierten Halterung konnte die Ohrkammer im Ohr der Kaninchen auf dem Objektivtisch des Mikroskopes fixiert werden.

Das makroskopische Umfeld der Ohrkammern wurde täglich kontrolliert und bei markanten Befunden mit einer Canon AE-1 Spiegelreflexkamera abfotografiert.

Wenn nach gut zweiwöchigem Wachstum die Gefäße den Mittelteil des Innenraumes der Kammer erreichten, wurden Videoaufnahmen oder Fotografien vom mikroskopischen Bild angefertigt. Das von dem Forschungsmikroskop "Universal" der Firma Zeiss gelieferte Bild der dynamischen Vorgänge im Ohrkammerngewebe wurde über eine Videokette auf das Bandgerät der Firma Philips aus der Serie 87 Color gespeichert. Mit einer Kamera BXC-1640 P der Firma Sony und einem dazu passenden Adapter (CMA-5CE) konnte man simultan das mikroskopische Bild auf einem Trinitron Color Receiver/Monitor CVM-1350 (Sony) verfolgen, welches dann auf das Videoband überspielt wurde. Regelmäßige Verlaufskontrollen über mehrere Wochen und medikamenteninduzierte Veränderungen wurden mit einer Contax Spiegelreflexkamera vom mikroskopischen Bild abfotografiert.

Um vasoaktive Pharmaka, Sauerstoff und die Auswirkungen von Wärme im Ohrkammerngewebe sichtbar zu machen, wurde einem Versuchstier (Protokoll-

Nummer 82/2/2) 42 Tage nach Insertion einer Delrin<sup>R</sup>-Ohrkammer 1 µg/kg Körpergewicht Adrenalin (Suprarenin<sup>R</sup>) intravenös gespritzt. Nach Abklingen dieses Effektes bekam dasselbe Tier die halbe Dosis auf gleichem Wege und wiederum nach Wirkende 1 µg/kg Körpergewicht Noradrenalin (Arterenol<sup>R</sup>) intravenös appliziert. Zwei Tage später erhielt dasselbe Tier zuerst 1 mg/kg Körpergewicht Dihydralazin (Nepresol<sup>R</sup>) intravenös injiziert, nach einer weiteren halben Stunde 0,2 mg/kg Körpergewicht Verapamil (Isoptin<sup>R</sup>). Am fünften Tag wurden dem Tier ungerichtet 100 % Sauerstoff (drei Liter pro Minute) für die Dauer von zehn Minuten zugeführt. Ein anderes Versuchstier (Protokoll-Nummer 82/12/5), dem 28 Tage zuvor zwei Ohrkammern eingesetzt worden waren, wurde nach üblicher Gabe von Ketaminhydrochlorid und Xylazin sediert und anschließend mikroskopiert. Bei diesem Kaninchen ist drei Stunden später das Ohrkammerngewebe vor und nach zehnminütiger Rotlichtbestrahlung unter dem Mikroskop untersucht worden.

Beiden Tieren (Protokoll-Nummer 82/2/2 und 82/12/5) sind in Injektionsnarkose mit Ketaminhydrochlorid (Ketanest<sup>R</sup>, 35 mg/kg Körpergewicht) und Xylazin (Rompun<sup>R</sup>, 3 mg/kg Körpergewicht) unter sterilen Bedingungen zwei PVC-Katheter mit 1 mm Durchmesser jeweils in die rechte A. und V. femoralis gelegt und subkutan auf die Dorsalseite des Tieres geleitet worden. Am ersten, zweiten, dritten und fünften Tag wurden über die venösen Zugänge die oben aufgeführten vasoaktiven Pharmaka in den entsprechenden Dosierungen appliziert und wie auch im Falle der Applikation von Rotlicht und Sauerstoff hämodynamisch untersucht. Die Auswirkungen sind über die arteriellen Katheter durch Blutdruck- und Herzfrequenzmessungen auf Kurven registriert und auf einem Zweikanal-Schreiber festgehalten worden.

Bei einer Raumtemperatur von 20°C, einer Luftfeuchtigkeit von 65 %, einem Luftdruck von 760 mm Hg und einem PO<sub>2</sub> in der Luft von 159 mm Hg, ist dem in einem Tuch immobilisierten Kaninchen das Deckplättchen der Delrin<sup>R</sup>-Ohrkammer vorsichtig entfernt worden (Protokoll-Nummer 82/12/5). Die implantierte Ohrkammer war zu diesem Zeitpunkt 73 Tage alt und vollvaskularisiert. Nach Befeuchten des freigelegten Gewebes mit körperwarmer physiologischer Kochsalzlösung wurde über einen Aufschraubmechanismus eine Sauerstoffelektrode der Firma Hellige (Typ Servomed 361, Oxymonitor) schrittweise dem Ohrkammerngewebe genähert. Der Meßfühler besaß eine Heizeinrichtung, die das Gewebe an der Meßstelle mit einer Temperatur von 37°C kon-

stanthielt, um den Einfluß verschieden intensiver Durchblutung auf das Meßergebnis zu vermeiden. Als Kontrolle für fehlenden Kontakt der Elektrode, oder zu heftige Kompression des Gewebes, stieg die Heizleistung sofort an. Mit dieser Elektrode wurde der Sauerstoffpartialdruck des hier 50  $\mu\text{m}$  tiefen Kammerspalt es unter Ausnutzung der elektrochemischen Spannungsreihe bestimmt und zusammen mit der Heizleistung über einen Zweikanal-Schreiber registriert. Nach einer Anwärmzeit von 15 Minuten und einer Meßzeit von 30 Minuten wurden dem Tier mit Hilfe eines Schlauches ungerichtet drei Liter Sauerstoff pro Minute zugeführt.

## 2. Das Ohrkammermodell

Das Grundmodell der Polyoxymethylen-Ohrkammer bestand aus vier Teilen (Abb. A). In den Kammerhauptteil aus Delrin<sup>R</sup> (Teil 1), der als Grundgerüst diente, wurde der Raumgeber hineingedreht, der die Dicke des einwachsenden Gewebes determinierte. Das Deckglas (Teil 2) dichtete den Innenraum der Kammer nach außen ab und schuf durch seine Transparenz die Voraussetzung zur mikroskopischen Beobachtung. Ein Metallsprengring (Teil 3) stabilisierte das Deckplättchen in der Kammer und hielt dadurch den künstlich geschaffenen Kammerspalt konstant. Das Dacronnetzmaterial (Teil 4), welches an die Unterseite des Grundgerüsts mit dem Silikonklebstoff 732 der Firma Dow-Corning geklebt wurde, sollte dem Granulationsgewebe als Leitschiene dienen, durch seine Struktur den Wachstumsreiz erhöhen und die Kammer besser im Ohr fixieren. In den Boden der Ohrkammer waren acht trichterförmige Löcher gestanzt, durch die das Regenerationsgewebe einwachsen sollte. In das Kammergrundgerüst war ein zylindrisch geformter und abgestuft gestalteter Stecker eingearbeitet, der die Kammer im Ohr fixierte und störendes Einwachsen von Epidermis in den Innenraum verhinderte. Der Innenteil des Delrin<sup>R</sup>-Steckers war zur Hälfte mit Plexiglas ausgefüllt, damit das mikroskopische Licht weitgehend ungebrochen auf das Gewebe gerichtet werden konnte. Fünf für die Funktion wichtige Komponenten sind auf diese Weise in ein gedrehtes Stück Delrin<sup>R</sup> integriert worden (Abb. 1).



Abb. A Schema einer Polyoxymethylen - (Delrin<sup>R</sup>) - Ohrkammer

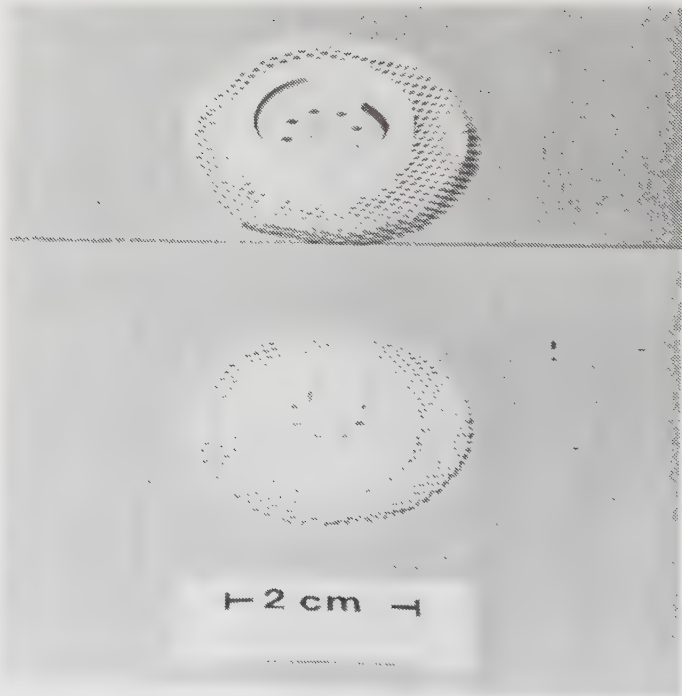


Abb. 1 Polyoxymethylen - (Delrin<sup>R</sup>) - Ohrkammer von der Vorder- und Rückseite

Bei den 75 eingesetzten Ohrkammern betrug in 35 Kammern die Raumtiefe 25  $\mu\text{m}$ , in 34 Kammern 50  $\mu\text{m}$ . Jeweils drei Ohrkammern besaßen eine Innerraumtiefe von 100  $\mu\text{m}$ , beziehungsweise 200  $\mu\text{m}$ . Von den 75 Deckplättchen bestanden 59 aus Plexiglas, 16 Plättchen wurden aus Kristallglas angefertigt.

### 3. Implantationstechnik

Nach Rasur beider Ohrseiten erfolgte die Implantation der Ohrkammern unter sterilen Operationskauteilen. Zunächst wurden die A. und V. marginalis eines Ohres aufgesucht und in ihrer unmittelbaren Nachbarschaft, möglichst nahe der Ohrspitze, von der Dorsalseite der Ohrmuschel ein Loch im Durchmesser von 6 mm durch alle drei Schichten gestanzt. Die Innenhaut an der Ventralseite des Ohres ist vom darunterliegenden Knorpel gelöst und im Durchmesser des Kammergrundgerüstes reseziert worden. Die Ohrkammer wurde mit dem Stecker voran in das Loch von ventral nach dorsal gedrückt und das Dacronnetz unter die freipräparierte Innenhaut flach ausgebreitet.

Modifikationen bestanden darin, zwei Ohrkammern von der Dorsalseite des Ohres und zwei weitere ohne Dacronnetz einzusetzen.

Der Innenraum der Ohrkammern wurde mit verschiedenen Flüssigkeiten gefüllt: 49 Kammern enthielten 0,9 prozentige NaCl-Lösung, 15 Kammern Cefalozin (Gramaxin<sup>R</sup>), 5 Aqua dest; 6 Ohrkammern blieben ungefüllt.

### III. ERGEBNISSE

#### A. Morphologische Untersuchungen an Ohren von Kälbern und Kaninchen

Die Dicke eines Kälberohres an einer für die Ohrkammerimplantation geeigneten Stelle betrug  $2,5 (+/- 0,1)$  mm.

An vergleichbarem Ort wurde beim Kaninchen eine Schichtdicke von  $1,4 (+/- 0,1)$  mm gemessen.

#### B. Ohrkammerimplantation am Kalb

##### 1. Implantationstechnik

Bei einer Operationsdauer von 10 bis 15 Minuten ließen sich die Ohrkammern ohne Schwierigkeiten in Kälberohren einsetzen. Zwei bis drei stärkere, beim Kaninchenohr nicht vorhandene Knorpelleisten konnten die Präparation erschweren.

Die zuerst eingesetzte Kammer von Matlaga bereitete insofern Probleme, als daß dieses Modell ausschließlich für Kaninchenohren konzipiert war.

##### 2. Verlaufsbeobachtung

Am ersten postoperativen Tag zeigte sich an der Ventralseite der Ohren im Umfeld der neun Kammern eine leichte ödematöse Schwellung mit livider Verfärbung. Diese bildete sich im Laufe der nächsten Tage zurück, die Ohrkammern heilten reizlos ein und wurden bis zu zehn Wochen gut von den Tieren toleriert (Abb. 2 und 3).

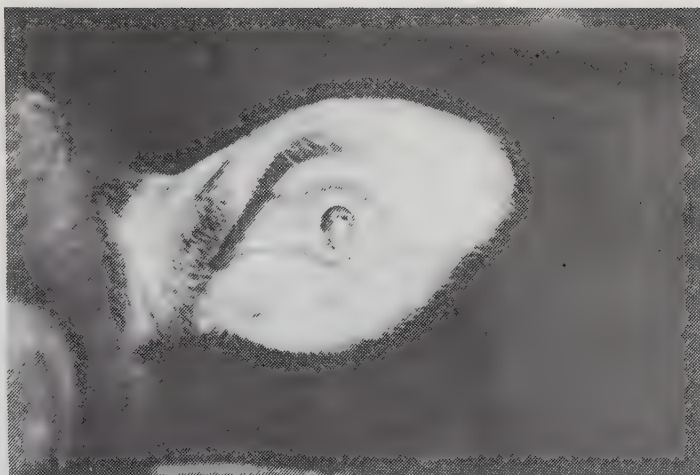


Abb. 2 Ohrkammer im Ohr eines Kalbes (Protokoll-Nummer 82/3/1)  
von der Ventralseite vier Wochen nach der Implantation.



Abb. 3 Ohrkammer im Ohr eines Kalbes (Protokoll-Nummer 82/3/1)  
von der Dorsalseite vier Wochen nach der Implantation.

Bei vier Kammern wurde nach einer Woche ein Überwachsen des Steckers durch Oberhautgewebe beobachtet.

Während post operationem der Ohrkammerinnenraum mit blutig-seröser Flüssigkeit gefüllt war, kamen nach zwei Wochen unter dem Mikroskop deutliche zusammenhängende Strukturen zur Darstellung. Die Flüssigkeit war klar und serös, die Löcher und Teile des Kammerspalt waren mit blutigen Auflagerungen bedeckt (Abb. 4).

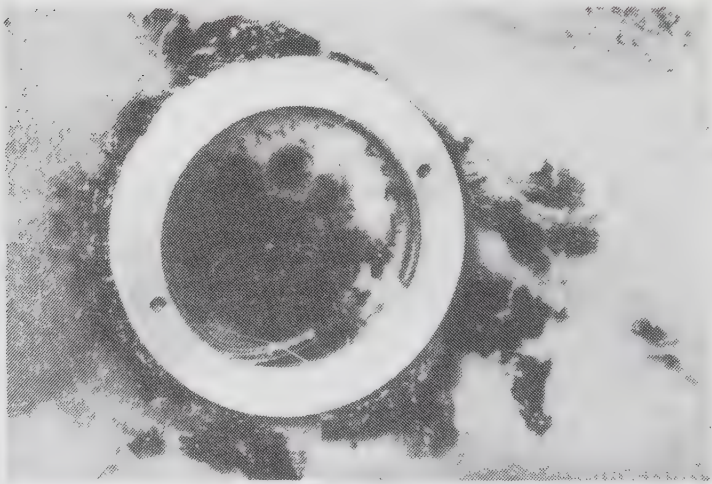


Abb. 4 Ohrkammer im Ohr eines Kalbes (Protokoll-Nummer 82/5/1) zwei Wochen nach Implantation: flüssigkeitsgefüllter Kammerspalt mit blutig bedeckten Löchern.

In der dritten Woche zeigten sich mikroskopisch Zellansammlungen. Am Rande des Kammerinnenraumes einer Ohrkammer (Protokoll-Nummer 82/2/1) war ein dichotom verzweigter Gefäßast, der sich in die Mitte des Kammer-spaltes vorschob, erkennbar (Abb. 5).



Abb. 5 Ohrkammer im Ohr eines Kalbes (Protokoll-Nummer 82/2/1) drei Wochen nach Implantation: Gefäßäste, die sich in die Mitte des Kammerspaltes vorschoben.

Die Voruntersuchungen ließen den Schluß zu, daß es mit Hilfe der Delrin<sup>R</sup>-Ohrkammer möglich war, auch bei Kälbern Gefäßwachstum in der Ohrkammer zu induzieren und der Beobachtung von außen zugänglich zu machen.

## C. Ohrkammerimplantation am Kaninchen

### 1. Implantationstechnik und Einheilungsrate

75 Ohrkammern ließen sich komplikationslos in die Ohren der Kaninchen einsetzen. Für die Auswertung der Versuche standen 51 der 75 implantierten Kammern zur Verfügung. 18 Ohrkammern mußten wegen einer Sekundärinfektion innerhalb der ersten sieben Tage explantiert werden, zwei Kaninchen entfernten sich jeweils eine ihrer Ohrkammern selbst. Zwei ohne Dacronnetz implantierte Kammern besaßen keinen dauerhaften Halt im Ohr und wurden nach einer Woche explantiert. Zwei von der Dorsalseite implantierte Ohrkammern waren ungenügend im Ohr fixiert und dadurch ebenfalls nicht verwertbar.

### 2. Biokompatibilität der Ohrkammer

Eine leichte ödematöse Schwellung und livide Verfärbung im Kammerumfeld bildete sich in den ersten postoperativen Tagen rasch zurück (Abb. 6).



Abb. 6 Ohrkammer im Kaninchen (Protokoll-Nummer 82/5/6) drei Tage nach der Implantation: ödematöse Schwellung und livide Verfärbung des Kammerumfeldes (↑).

51 Ohrkammern blieben fest im Gewebe verankert und zeigten über den gesamten Beobachtungszeitraum (durchschnittlich 24 Tage) keine Abstoßungsreaktionen (Abb. 7 und 8).



Abb. 7 Ohrkammer im Kaninchen (Protokoll-Nummer 82/6/2) sechs Wochen nach der Implantation.

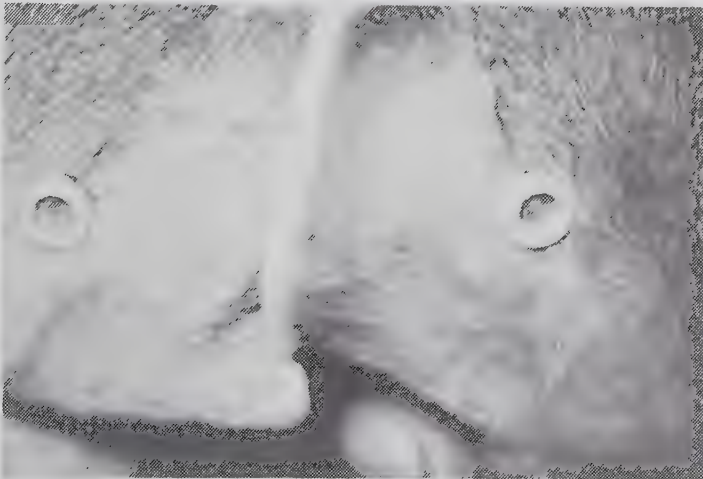


Abb. 8 Ohrkammer im Kaninchen (Protokoll-Nummer 82/7/1) acht Wochen nach Implantation: haarbewachsene reizlose Dorsalseite.

Änderungen im Durchmesser und in der Dicke des verwendeten Dacronnetzes, unterschiedliche Mengen und Fixierungspunkte des Silikonklebstoffes wirkten sich auf das Infektions- und Abstoßungsrisiko nicht aus.

### 3. Gewebeeinsprossung in die Ohrkammer

Von den 51 der untersuchten Ohrkammern stellte sich in 33 Kammern Gefäßwachstum ein. Dabei ließen 19 der 24 Kammern mit einer Spalttiefe von 50  $\mu\text{m}$  und 11 der 22 Ohrkammern mit einer Raumtiefe von 25  $\mu\text{m}$  terminale Blutgefäße erkennen. Zwei von dreien mit einer Spalttiefe von 200  $\mu\text{m}$  und eine von zwei Ohrkammern mit einer Raumtiefe von 100  $\mu\text{m}$  zeigten Endstrombahngefäße.

In 31 von 40 Ohrkammern, in denen Deckplättchen aus Plexiglas Verwendung fanden, wurden terminale Blutgefäße nachgewiesen, während diese in zwei der restlichen elf Kammern, bei denen Kristallglasdeckplättchen benutzt wurden, zu sehen waren.

In die 33 Kammern traten Gefäße nach 13 bis 25, im Durchschnitt nach 17 Tagen, erstmals makroskopisch sichtbar in den Kammerinnenraum ein. Von dem Austritt der Gefäße aus den Löchern bis zum Erreichen des Plexiglasrandes in der Mitte des Kammerinnenraumes vergingen fünf Tage. Das entsprach bei einer Entfernung von 1,2 mm vom Rand der Kammerlöcher einer täglichen Wachstumsgeschwindigkeit von 0,24 mm.

Hinsichtlich der im Kammerspalt ausgetesteten Flüssigkeiten konnte weder ein Unterschied in der Induktion von Endstrombahngewebe, noch in der Wachstumsgeschwindigkeit der Gefäße festgestellt werden.

Aus den acht vorhandenen Löchern des Kammerinnenraumes wuchs die terminale Strombahn jeweils einmal aus sechs, sieben und acht Löchern ein (Abb. 9). Vier Mal traten aus fünf, sieben Mal aus vier, sechs Mal aus drei und auch aus zwei, sowie wiederum sieben Mal aus einem Loch Blutgefäße in den Kammerspalt ein.

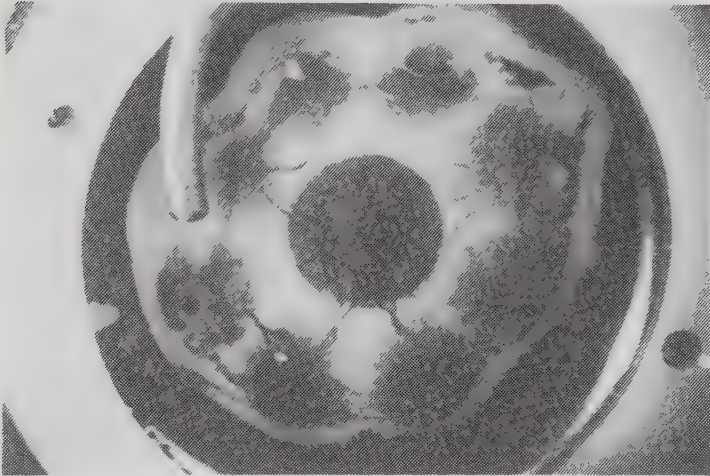


Abb. 9 Vollvaskularisierter Innenraum einer Ohrkammer 22 Tage nach Implantation (Protokoll-Nummer 82/12/2).

Aus welchem der acht Löcher Gefäße sprießen würden, ließ sich innerhalb der ersten Woche nicht vorhersagen. In jeder Kammer sah man blutig-seröse Flüssigkeit, die bereits unmittelbar postoperativ im Kammerspalt vorhanden war. Wenn nach einer Woche Blutkoagel in einzelnen Löchern dem wachsenden Gewebe ein mechanisches Hindernis bot, konnten an diesen Stellen keine Blutgefäße erwartet werden. Solche Bezirke wurden dann von dem neuen Endstrombahngewebe ausgespart, obwohl der restliche Teil des Innenraumes durchaus vollvaskularisiert sein konnte.

Bei den 33 gefäßhaltigen Löchern wurde ein positiver Zusammenhang zwischen der Anzahl der Löcher einer Ohrkammer, aus denen Gefäße austraten und der Gesamtüberlebenszeit dieser Blutgefäße gefunden: sie betrug durchschnittlich 24 Tage. Es war keine Tendenz zwischen der Anzahl der Löcher, aus denen Gewebe entsprang und der Zeit, die von der Implantation bis zum erstmaligen Erscheinen der Gefäße im Kammerspalt verging, erkennbar. Diese Zeit schien auch keinen Einfluß auf die Gesamtüberlebensdauer der Gefäße zu haben.

#### 4. Mikroskopische Untersuchungen

Bei der Angiogenese des Ohrkammerngewebes formierten sich die neugebildeten Blutgefäße zunächst in Richtung der Nachbarlöcher oder der Kammermitte. In den ersten Tagen waren für den Aspekt dieses Gefäßbettes am Rand der neuen Gefäße aufgetretene rote Zellhaufen charakteristisch, die sich bei höherer Vergrößerung als Erythrozytenansammlungen erwiesen und teilweise konfluieren (Abb. 10).

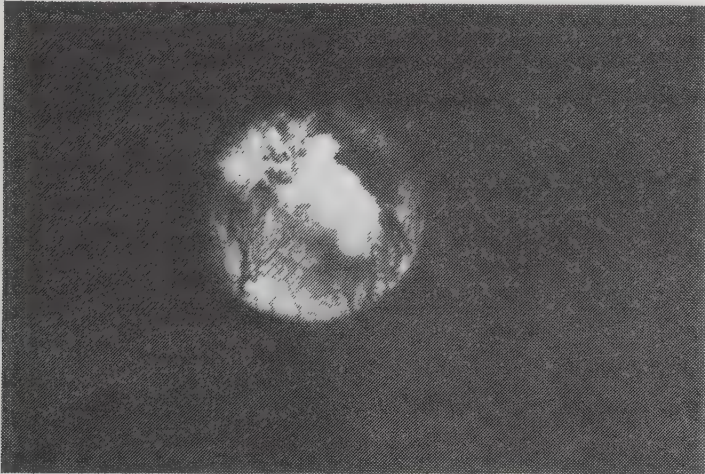


Abb 10 Kaninchenohrkammer 18 Tage nach Implantation (Protokoll-Nummer 83/4/3): Erythrozytenextravasate (←).

Nach drei Wochen waren die Extravasate verschwunden und die Gefäßwandungen stellten sich unter dem Mikroskop deutlicher dar. Die Anzahl der Gefäße nahm ab und ihre Anordnung imponierte geregelter. Dadurch wechselte der zunächst diffuse hellrote Farbgrundton des Kammerinnenraumes in klar abgegrenzte dunkelrote Gefäße, die von bindegewebigen Anteilen umgeben waren.

Es fanden sich im Ohrkammerngewebe Kurzschlußverbindungen, die größerkalibrige Gefäße unter Umgehung des Kapillarkreislaufes anastomosierten. Des weiteren wurden plötzliche Änderungen der Strömungsrichtung beobachtet. Gefäße öffneten und schlossen sich und beeinflussten dadurch Flußrichtung und -volumen abzweigender Gefäße.

Die kleinsten Blutgefäße eines bestimmten Gefäßareales unterlagen einerseits verschiedenen funktionellen Kaliberschwankungen, andererseits waren sie einem Strukturwandel unterworfen (Abb. 11, 12 und 13).

In einer Ohrkammer, die drei Wochen zuvor implantiert worden war, fiel besonders in der Mitte des Innenraumes ein gefäßloser Bezirk auf (← →). In den restlichen Abschnitten des Kammerspaltes konnten Erythrozytenablagerungen und größtenteils ungeformte Gefäße, sowie unkoordinierte Gefäßverläufe dargestellt werden. Bei 11 Uhr imponierte deutlich ein quer durch den Innenraum der Ohrkammer ziehendes, sich vielfach aufzweigendes größerkalibriges Gefäß (Abb. 11).

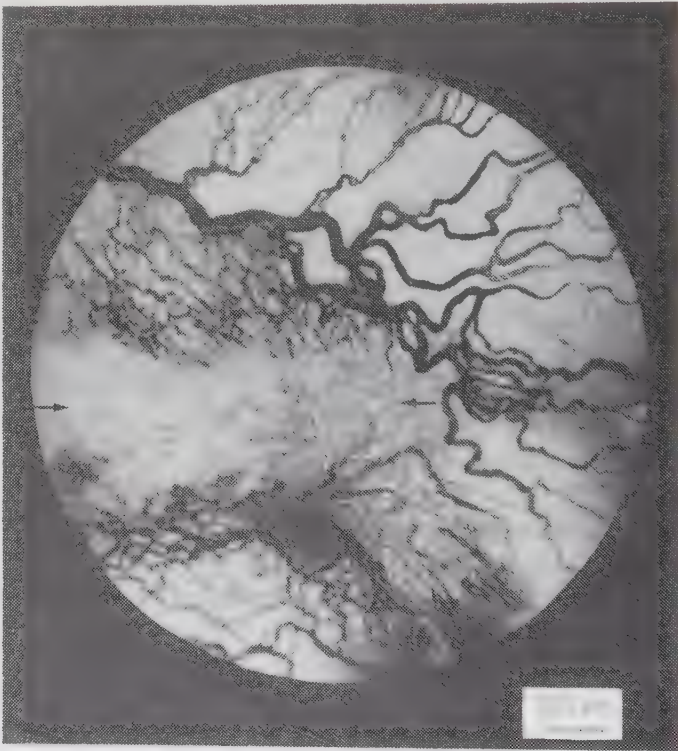


Abb 11 Ohrkammerinnenraum vier Wochen nach Implantation (Protokoll-Nummer 82/12/5).

Bis zur siebenten postoperativen Woche entwickelte sich im linken oberen Quadranten zwischen neun und zehn Uhr ein zweites größerkalibriges Gefäß ( ↓ ). Der gesamte Kammerspalt war vollvaskularisiert, die Erythrozytenextravasationen waren verschwunden und die Gefäße weniger regellos angeordnet (Abb. 12).



Abb. 12 Ohrkammerinnenraum sieben Wochen nach Implantation (Protokoll-Nummer 82/12/5).

Nach zehn Wochen waren im Vergleich zum Vorbefund eine Reihe zusätzlicher Gefäße entstanden und die bereits angelegten besser perfundiert. Das beschriebene größerkalibrige Gefäß schien sich von etwa 10 Uhr nach neun Uhr verlagert zu haben; gleichzeitig verschob sich das in Richtung Ohrspitze konvexverlaufende größere Gefäß von 5 bis 6 nach 4 bis 5 Uhr ( ↓ ). Das untere der beiden derartig verlaufenden Gefäße war zu diesem Zeitpunkt deutlich besser durchblutet, als dies vor drei Wochen beobachtet werden konnte. Dahingegen war das erste Hauptgefäß, welches nach vier Wochen bei 11 Uhr beschrieben worden war, in der zehnten postoperativen Woche kaum noch wahrzunehmen ( ↑ ) (Abb. 13).

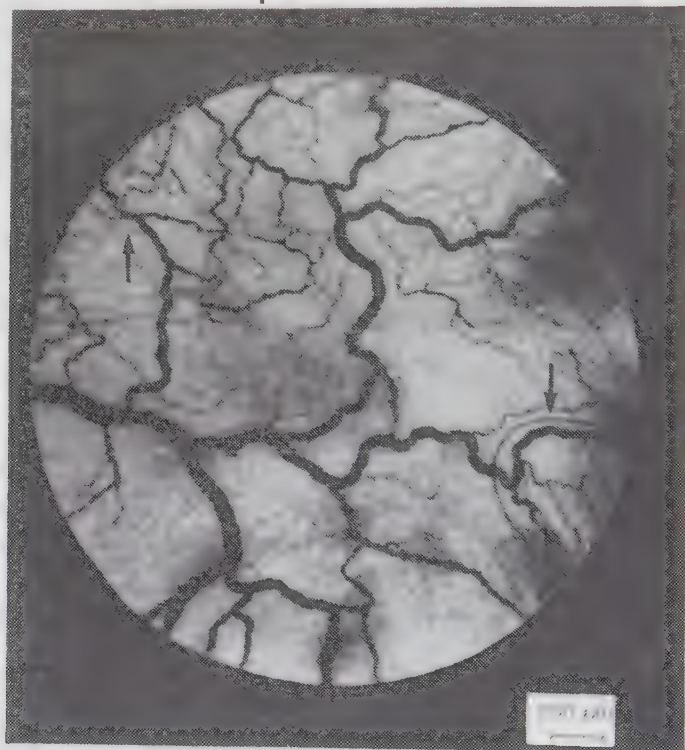


Abb. 13 Ohrkammerinnenraum zehn Wochen nach Implantation (Protokoll-Nummer 82/12/5).

Zwei funktionell unterschiedliche Gefäßsysteme konnten gegeneinander abgegrenzt werden. Neben arteriellen Zuflußgebieten sah man venöse Entsorgungsbezirke, die vorwiegend eine gleichsinnige Strömungsrichtung aufwiesen und in denen viele kleinere venöse Gefäße in Venolen mündeten (Abb. 14).

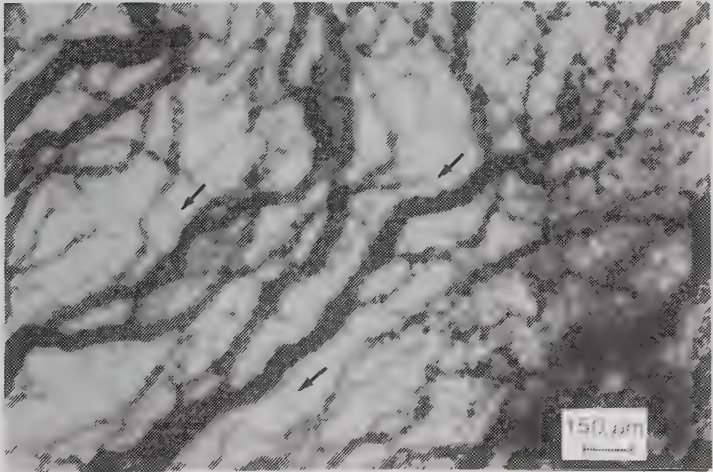


Abb. 14 Vollvaskularisierter Bezirk einer Ohrkammer 22 Tage nach Implantation (Protokoll-Nummer 82/10/2) : vorwiegend venöser Entsorgungsbezirk. Strömungsrichtung hauptsächlich in Pfeilrichtung ( ↓ ).

Gefäße eines wenig durchbluteten Kapillarnetzes waren durch ihre Endothellagen als solche zu erkennen ( $\leftrightarrow$   $\leftrightarrow$ ) (Abb. 15).

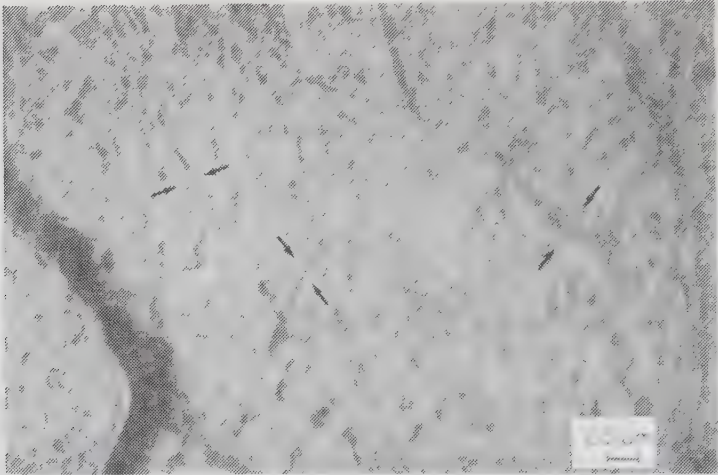


Abb. 15 Vollvaskularisierter Bezirk einer Ohrkammer 42 Tage nach Implantation (Protokoll-Nummer 83/9/2) : wenig perfundiertes Kapillarnetz mit noch sichtbaren Gefäßverläufen ( $\leftrightarrow$   $\leftrightarrow$ ).

Bei kurzzeitigen Strömungshindernissen zeigten sich hintereinander-geordnete Erythrozyten in geldrollenartiger Rouleauxformation (←) (Abb. 16).

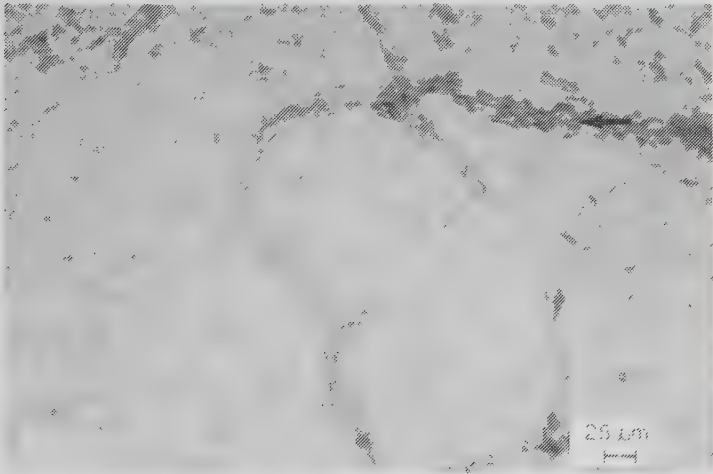


Abb. 16 Vollvaskularisierter Bezirk einer Ohrkammer 42 Tage nach Implantation (Protokoll-Nummer 83/9/2) : Erythrozyten in Rouleauxformation (←).

Wurden einzelne Gefäße längere Zeit nicht perfundiert und vorhandene Erythrozyten nicht abtransportiert, so formierten sich Erythrozytensäulen, die sich "lackfarben-orange" verfärbten ( ↓ ) (Abb. 17).

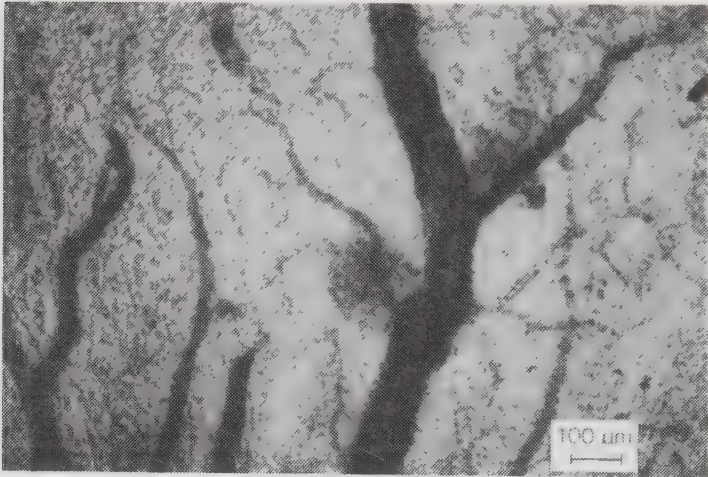


Abb. 17 Vollvaskularisierter Bezirk einer Delrin<sup>R</sup>- Ohrkammer  
30 Tage nach Implantation (Protokoll-Nummer 83/5/2):  
"lackartig"-verfärbte Erythrozytensäule ( ↓ ).

Gelegentlich traten in den Delrin<sup>R</sup>-Ohrkammern Gefäßblutungen mit Ablagerungen von Erythrozyten auf ( ↑ ) (Abb. 18).

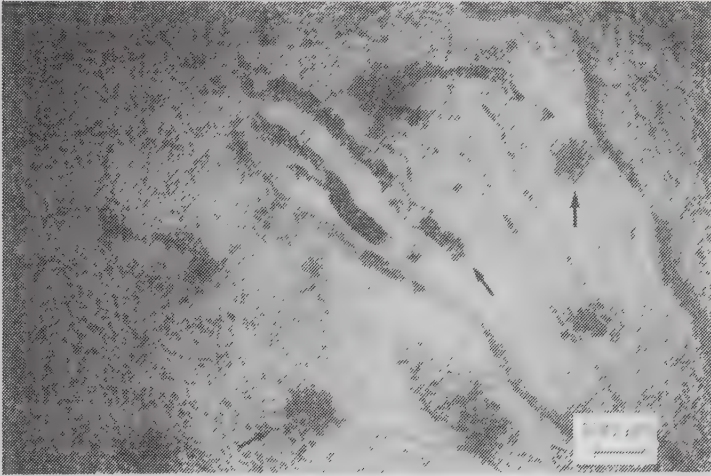


Abb. 18 Vollvaskularisierter Bezirk einer Ohrkammer 20 Tage nach Implantation (Protokoll-Nummer 83/6/5) : vereinzelt Erythrozytenablagerungen ( ↑ ).

Leukozyten boten im terminalen Strombett von Ohrkammern ein mannigfaltiges Bild. Sie konnten im Kapillarbett intra- und extravasal verstreut sein (Abb. 19), oder sie konnten, wenn mehrere von ihnen in Gruppen aneinanderlagen, ein Gefäßlumen kurzfristig ganz ausfüllen (Abb.20).

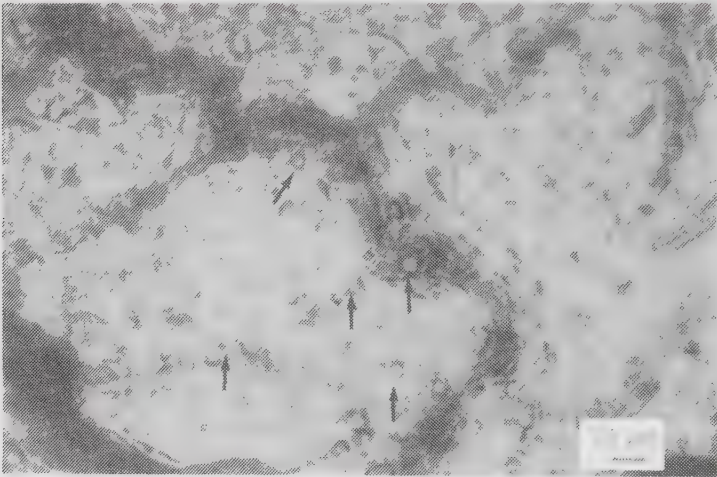


Abb. 19 Vollvaskularisierter Bezirk einer Ohrkammer 39 Tage nach Implantation (Protokoll-Nummer 83/10/2) : intra- und extravasal verstreute Leukozyten ( ↑ ).

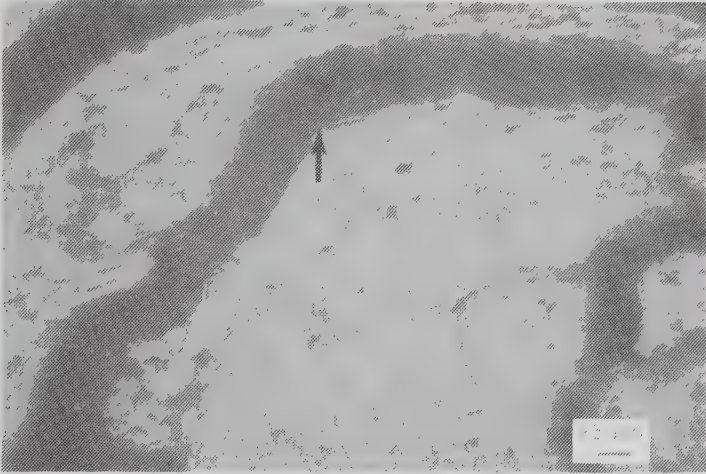


Abb. 2o Vollvaskularisierter Bezirk einer Ohrkammer 29 Tage nach  
Implantation (Protokoll-Nummer 84/1/6) : vier Leukozyten,  
die ein Gefäßlumen fast vollständig ausfüllen ( ↑ ).

Die weißen Blutkörperchen bewegten sich mit geringerer Geschwindigkeit als die Erythrozyten, indem sie an den Endothellagen der Gefäße entlangrollten (→) (Abb. 21).

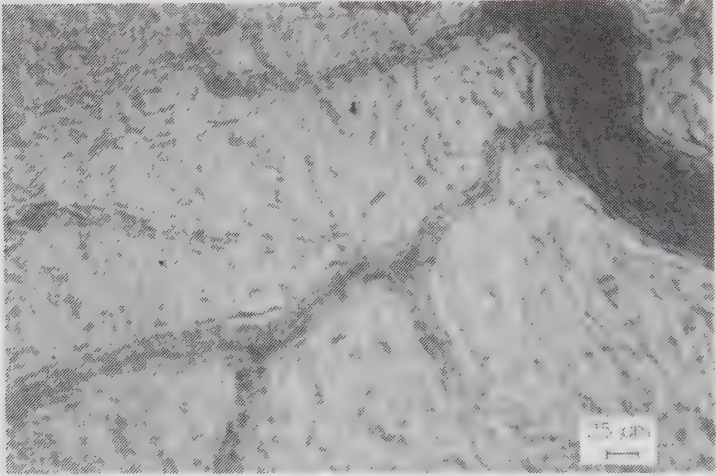


Abb. 21 Vollvaskularisierter Bezirk einer Ohrkammer 42 Tage nach Implantation (Protokoll-Nummer 83/9/2) : an den Endothellagen der großen Gefäße entlangrollende Leukozyten (→).

Vereinzelte wurden Gerinnselbildungen im Ohrkammerngewebe in Form von weißen Thromben beobachtet ( ↓ ) (Abb. 22).

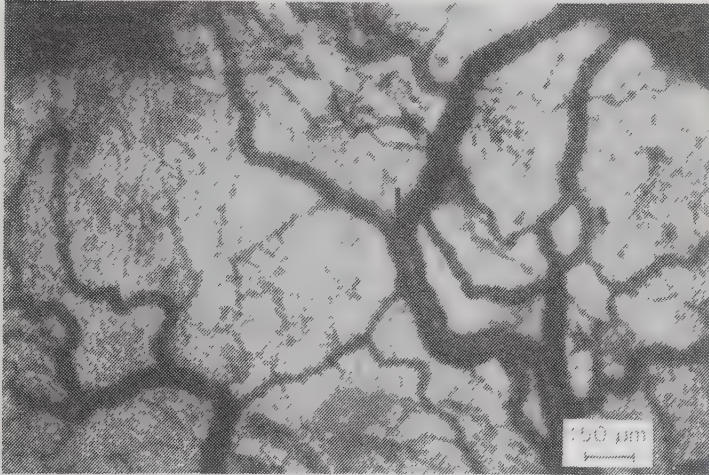


Abb. 22 Vollvaskularisierter Bezirk einer Ohrkammer 26 Tage nach Implantation (Protokoll-Nummer 83/4/7) : weißer, dem Gefäßverlauf folgender Thrombus ( ↓ ).

## 5. Auswirkungen von vasoaktiven Medikamenten, Sauerstoff und Wärme

Nach Gabe von Adrenalin (1  $\mu\text{g}$  pro kg Körpergewicht i. v.) stieg der Blutdruck von 95/65 mm Hg auf 200/170 mm Hg innerhalb von 15 Sekunden, die Herzfrequenz nahm von 220 auf 60 Schläge pro Minute ab, stieg dann nach weiteren 15 Sekunden auf 240 Herzschläge pro Minute noch unter den höchsten Blutdruckwerten erneut an (Abb. 23). Gleichzeitig trat 30 Sekunden nach Applikation eine Gefäßverengung, eine Strömungsverlangsamung und schließlich eine generalisierte Konstriktion des gesamten Gefäßbettes in der Ohrkammer ein. Die in dem Ausgangsbefund noch sichtbaren Kleinstgefäße schienen völlig verschwunden zu sein (Abb. 24 A und B).

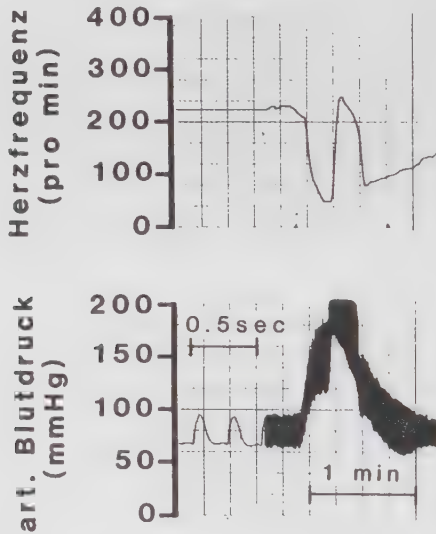


Abb. 23 Herzfrequenz und Blutdruck nach Gabe von 1  $\mu\text{g}/\text{kg}$  KG Adrenalin i.v.



Abb. 24 A

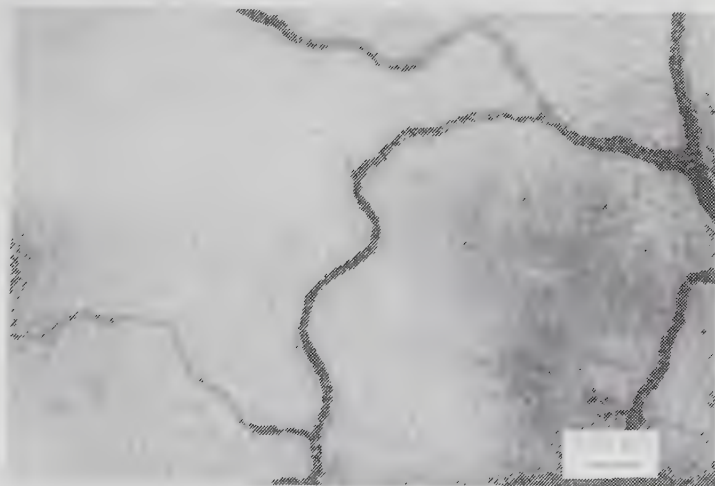


Abb. 24 B Vollvaskularisierter Bezirk einer Ohrkammer 42 Tage nach  
Implantation (Protokoll-Nummer 82/2/2).  
Vor (Abb. 24 A) und nach (Abb. 24 B) Gabe von 1  $\mu\text{g/kg}$   
Körpergewicht Adrenalin.

Noch deutlicher war die Reaktion auf die erneute Gabe von Adrenalin ( $0,5 \mu\text{g}$  pro Kilogramm Körpergewicht i.v.), die einen temporären Stillstand der Strömung bewirkte (Abb. 24 C).

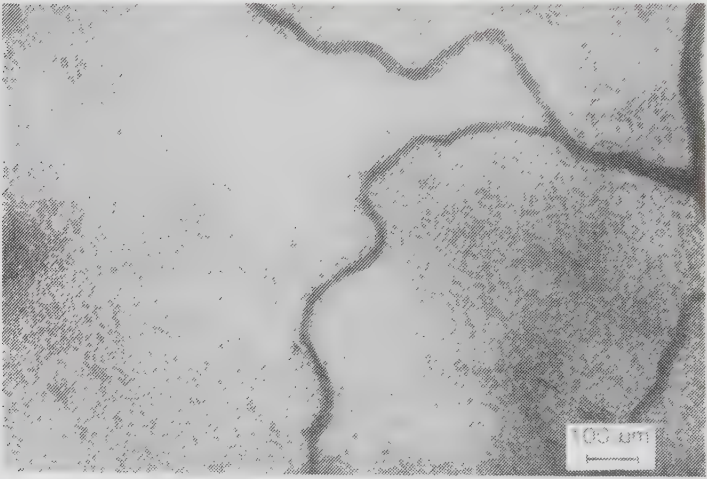


Abb. 24 C Vollvaskularisierter Bezirk einer Ohrkammer 42 Tage nach Implantation (Protokoll-Nummer 82/2/2). Gleiches Gebiet, wie in den Abbildungen 24 A und 24 B, hier nach erneuter Gabe von  $0,5 \mu\text{g/kg}$  Körpergewicht Adrenalin.

Auf die Gabe von Noradrenalin ( $1 \mu\text{g}$  pro Kilogramm Körpergewicht i.v.) stiegen der systolische und der diastolische Blutdruck von 90/60 auf 170/110 mm Hg an. Der Herzfrequenzabfall nach zehn Sekunden von 300 auf 120 Schläge pro Minute ging in einen 90 Sekunden dauernden langsamen Herzfrequenzanstieg über, der sich dann auf Werte von 270 einpendelte. Zu dieser Zeit erreichte der Blutdruck seine Ausgangswerte von 90/60 mm Hg (Abb. 25).

Gleichzeitig zu diesen Befunden reagierte das Gefäßbett mit einer Verlangsamung der Fließgeschwindigkeit des Blutes, einer Konstriktion der Gefäße, sowie einer Aufhebung der Spontanmotorik (Abbildungen 26 A und B).

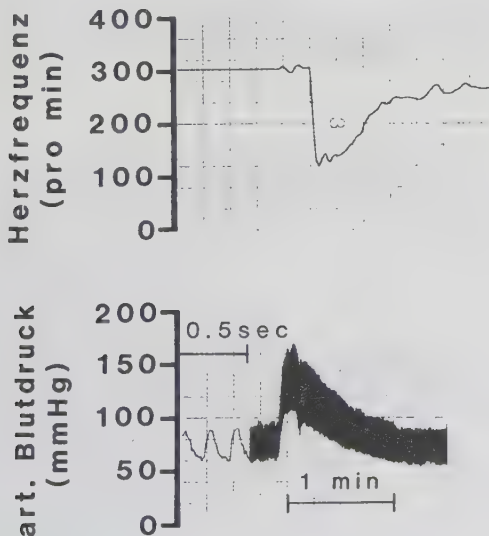


Abb. 25 Herzfrequenz und Blutdruck nach Gabe von  $1 \mu\text{g}/\text{kg}$  Körpergewicht i.v. Noradrenalin.

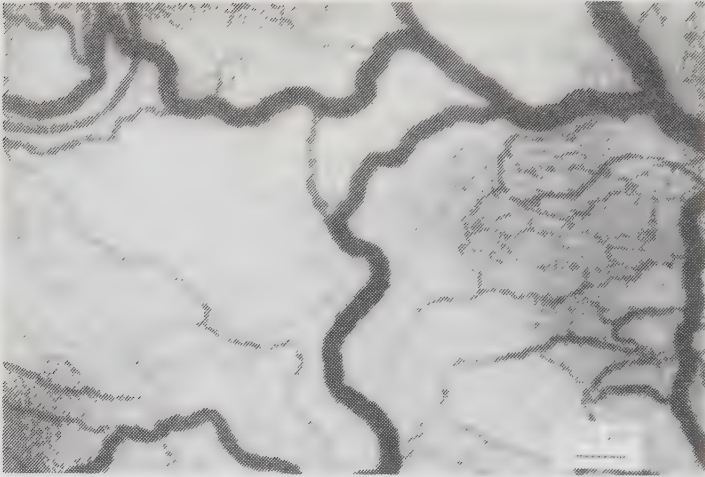


Abb. 26 A

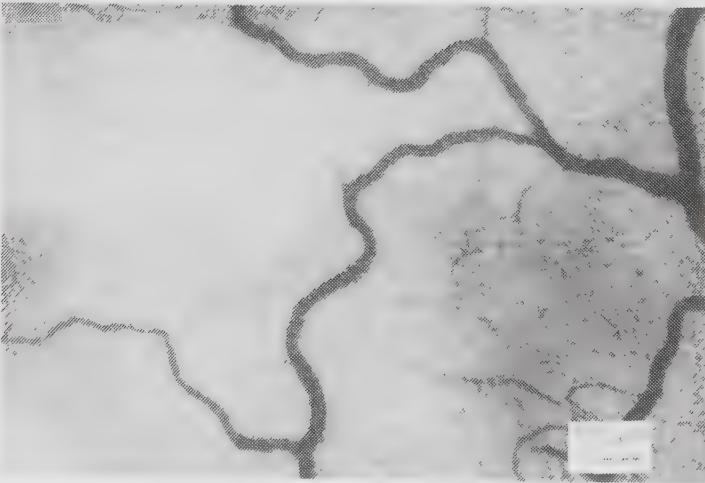


Abb. 26 B Vollvaskularisierter Bezirk einer Ohrkammer 42 Tage nach Implantation (Protokoll-Nummer 82/2/2).  
Vor (Abb. 26 A) und nach (Abb. 26 B) Gabe von 1 µg/kg Körpergewicht Noradrenalin.

Im Gegensatz zu diesen gefäßkonstringierenden Medikamenten konnte nach Verabfolgung von Dihydralazin (1 mg pro Kilogramm Körpergewicht i.v.) ein protrahierter Blutdruckabfall von 95/65 auf 80/50 mm Hg innerhalb von fünf Minuten verzeichnet werden. Nach dem gleichen Zeitintervall stieg die Herzfrequenz von 260 auf 330 Schläge pro Minute (Abb. 27).

Am Ohrkammerngewebe konnte eine gefäßerweiternde Reaktion demonstriert werden. Im Gefäßbett schienen die Strömungsgeschwindigkeit und die Anzahl perfundierter Gefäße zuzunehmen und man erkannte im Vergleich zum pharmakologisch unbeeinflussten Bild eine Gefäßdilatation (Abb. 28 A/B).

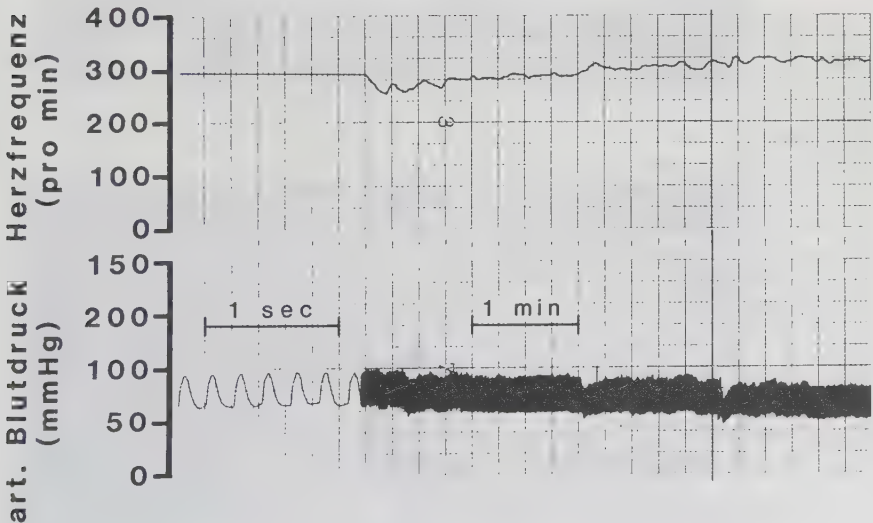


Abb. 27 Herzfrequenz und Blutdruck nach Gabe von 1 mg/kg KG Dihydralazin.

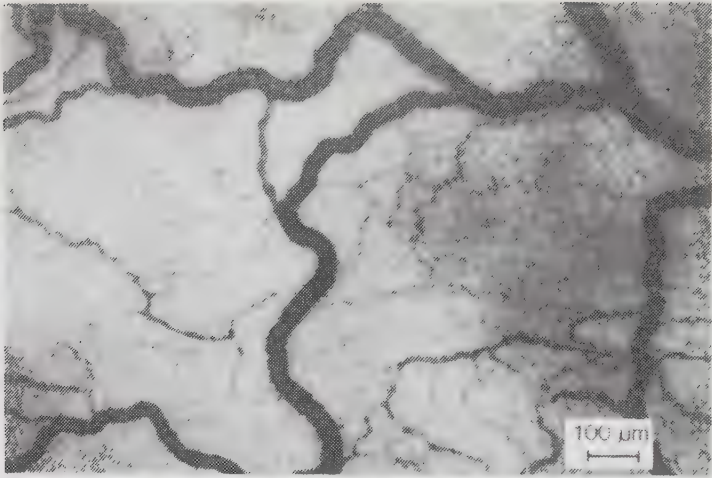


Abb. 28 A

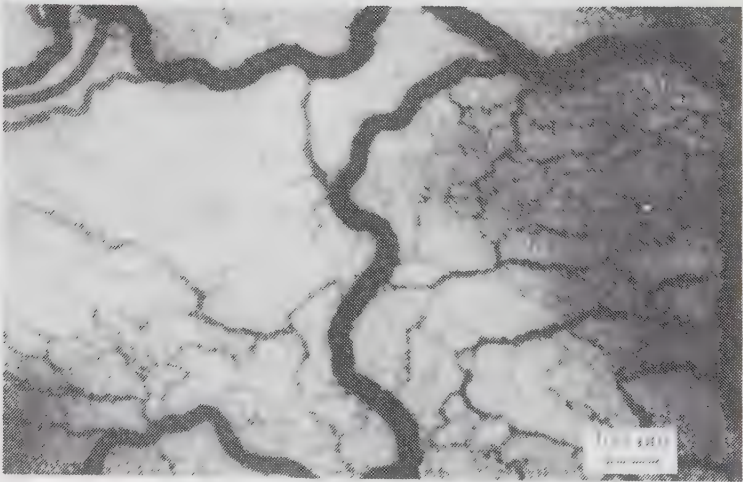


Abb. 28 B Vollvaskularisierter Bezirk einer Ohrkammer 46 Tage nach Implantation (Protokoll-Nummer 82/2/2).  
Vor (Abb. 28 A) und nach (Abb. 28 B) Gabe von 1 mg/kg Körpergewicht Dihydralazin.

Nach Gabe von Verapamil (0,2 mg pro kg Körpergewicht i.v.) zeigte sich nach weniger als 10 Sekunden eine Blutdrucksenkung von 70/50 auf 50/35 mm Hg. Drei Minuten später waren die Ausgangswerte wieder erreicht. Die Herzfrequenz sank im Verlauf der drei Minuten von 280 auf 250 Schläge pro Minute ab (Abb. 29).

Wie auch nach Gabe von Dihydralazin reagierten die Ohrkammergefäße auf Verapamil im Sinne einer Dilatation. Die Anzahl perfundierter Gefäße nahm zu, die Strömungsgeschwindigkeit des Blutes ebenso (Abb. 30 A/B).

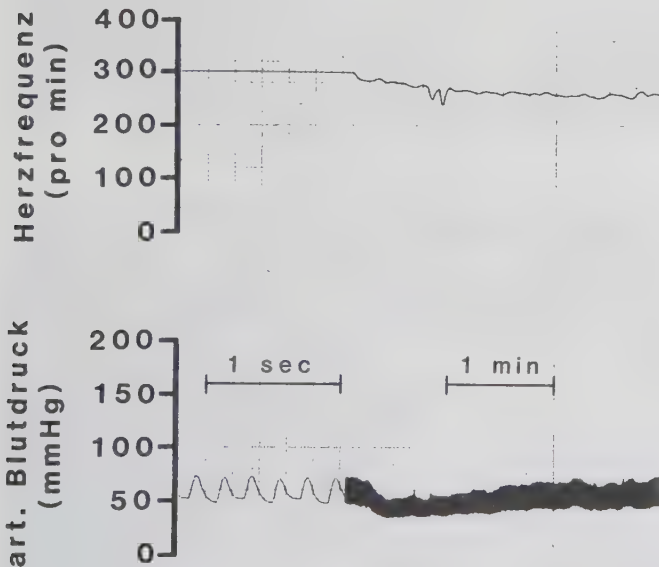


Abb. 29 Herzfrequenz und Blutdruck nach Gabe von 0,2 mg/kg KG Verapamil.

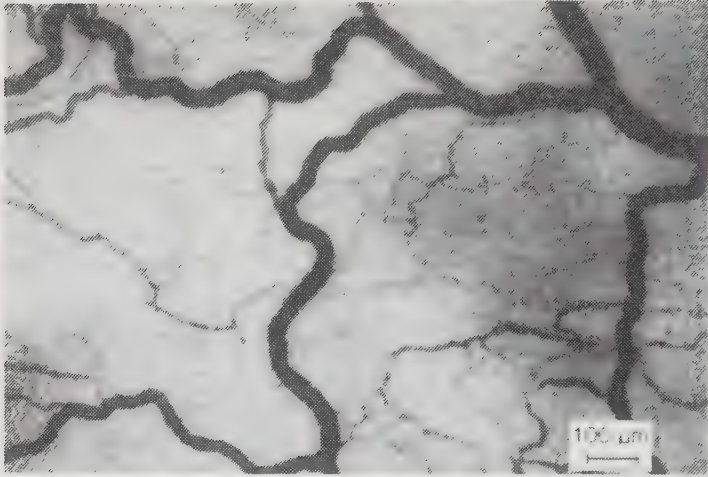


Abb. 30 A

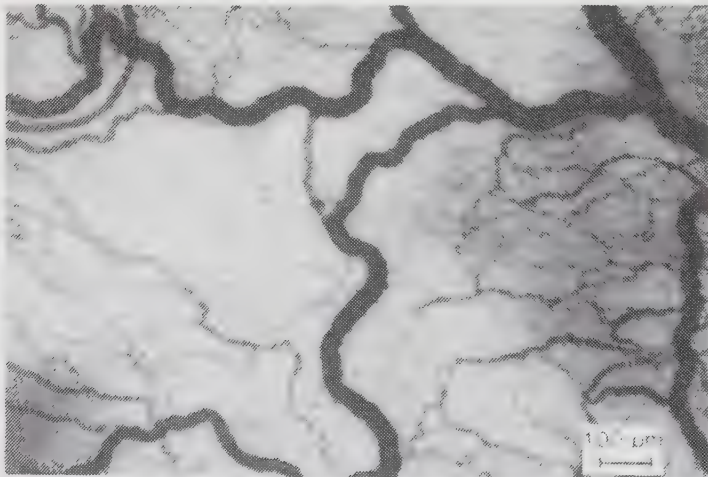


Abb. 30 B Vollvaskularisierter Bezirk einer Ohrkammer 46 Tage nach  
 Implantation (Protokoll-Nummer 82/2/2).  
 Vor (Abbildung 30 A) und nach (Abbildung 30 B) Gabe von  
 0,2 mg/kg Körpergewicht Verapamil.

Weder auf den Blutdruck, noch auf die Herzfrequenz, noch auf das Gefäßbett übten sowohl die fünfminütige Zufuhr von drei Litern Sauerstoff pro Minute, als auch die Gabe der Medikamente Ketaminhydrochlorid (Ketanest<sup>R</sup>) und Xylazin (Rompun<sup>R</sup>) einen Einfluß aus.

Bei der zehnminütigen Bestrahlung der Ohrkammer mit Rotlicht wurde nach anfänglichem Blutdruckanstieg von 110/80 mm Hg auf 150/100 mm Hg in den nächsten zwei Minuten ein Abfall auf Werte von 100/80 mm Hg registriert (Abb. 31).

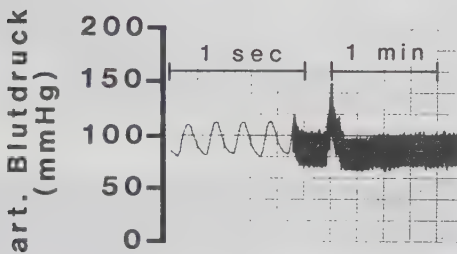


Abb. 31 Blutdruckreaktion nach Bestrahlung der Ohrkammer mit Rotlicht.

In der Delrin<sup>R</sup> - Ohrkammer konnte die Erweiterung des Gefäßbettes auf die Erwärmung nachvollzogen werden (Abbildungen 32 A und B).

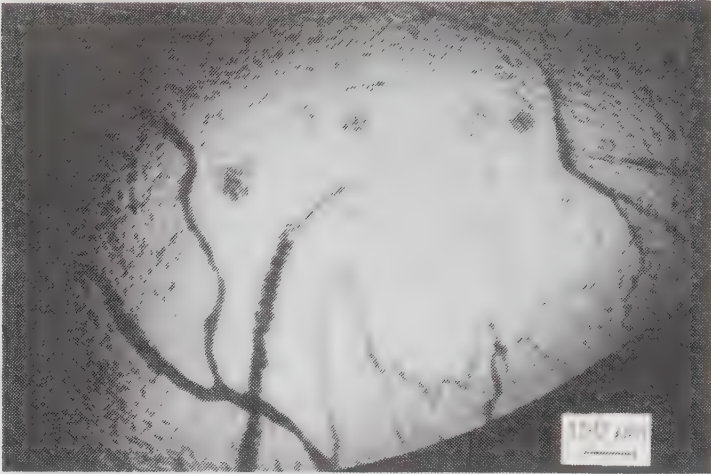


Abb. 32 A

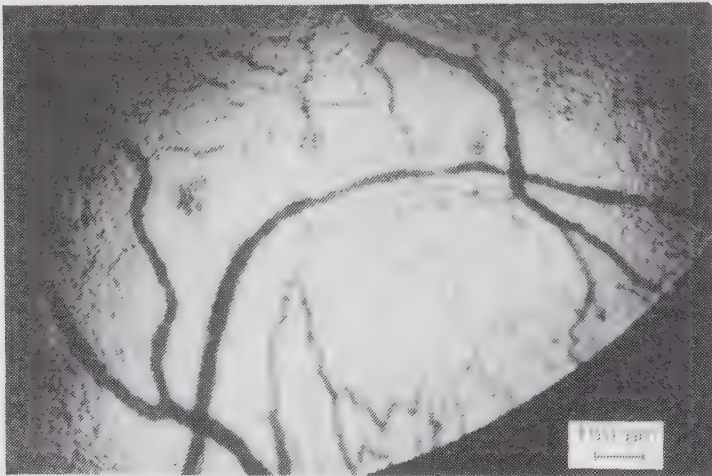


Abb. 32 B Vollvaskularisierter Ohrkammerbezirk 28 Tage nach Implantation (Protokoll-Nummer 82/12/5).

Vor (Abb. 32 A) und nach (Abb. 32 B) Beeinflussung mit Rotlicht.

## 6. $PO_2$ - Messungen an der Ohrkammer

Nach der Aufheizzeit des Ohrkammerngewebes wurde über die  $PO_2$ -Elektrode ein Sauerstoffpartialdruck von 45 mm Hg für 15 Minuten verzeichnet. Im Anschluß an einen weniger als eine Sekunde dauernden Anstieg dieses Wertes auf 65 mm Hg, stieg der  $PO_2$  langsam innerhalb der nächsten 30 Sekunden auf einen Wert von 85 mm Hg, der sich dann anschließend für die folgenden sieben Minuten auf 60 bis 70 mm Hg einstellte.

Der Zusatz von Sauerstoff zur Atemluft des Tieres ließ sich durch die ansteigenden und dann konstant hohen  $PO_2$ -Meßwerte von 130 mm Hg im Gewebe der Endstrombahn nachvollziehen. Der parabolische Anstieg der Kurve erfolgte nach einer 30 Sekunden dauernden Latenz zur Sauerstoffgabe (Abb. 33).

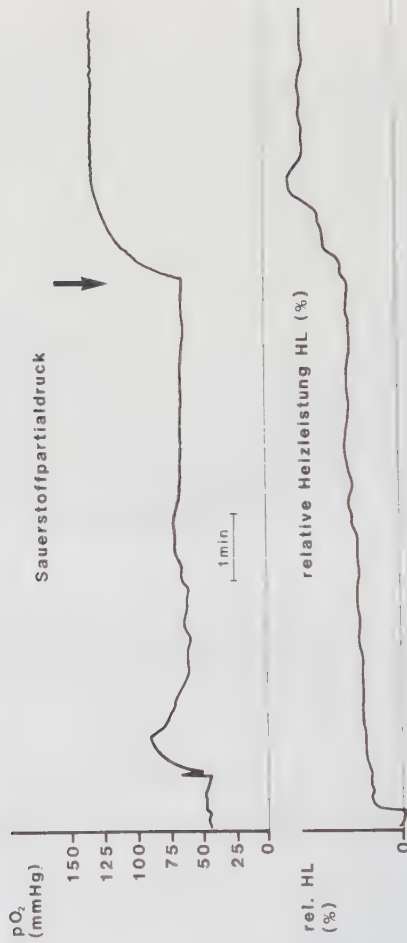


Abb. 33 Sauerstoffpartialdruck und relative Heizleistung unter physiologischen Bedingungen und nach Gabe von Sauerstoff ( ↓ ) in der Delrin<sup>R</sup> - Ohrkammer.

#### IV. DISKUSSION

Bisher sind die meisten Ohrkammermodelle für Kaninchen entwickelt worden (53). Für die Implantation in Kälberohren ließ sich von den bekanntesten Kammertypen keine übernehmen, denn das Ohr eines Kalbes war an einer für die Insertion geeigneten Stelle 80 % dicker, als das des Kaninchens. Aus den gleichen Gründen schied auch die an Hundeohren adaptierte Ohrkammer von Moore aus (38). Weil in anatomischer und physiologischer Hinsicht die Ohren von Kaninchen und Kalb kaum miteinander vergleichbar seien, äußerten Arfors, Intaglietta und Irwing ihre Bedenken, was Implantation und Gefäß-induktion anbetraf (4/25/26). Dennoch wurde eine Ohrkammer speziell den Ohren von Kälbern angepaßt.

Ausgehend von der beim ersten Versuchstier (Protokoll-Nummer 82/1/2) angewandten Ohrkammer nach Matlaga, mußte unter Berücksichtigung des unterschiedlichen Ohrquerschnittes das Kammergrundgerüst erhöht werden (34). Die bei vier Versuchen aufgetretene häutige Überwachsung des Steckers machte dessen Verlängerung erforderlich. Damit sich unter in-vivo Bedingungen die mikroskopischen Durchleuchtungsverhältnisse als zufriedenstellend erwiesen, wurde der Stecker ausgedreht und zur Hälfte mit Plexiglas gefüllt, so daß die Kammermitte frei durchleuchtbar für das mikroskopische Licht war. Das in der Verarbeitung schwierige, weil rissige und brüchige Plexiglas, wurde nur, wo es zur Transparenz für die Beobachtung erforderlich war, im mittleren Teil der Ohrkammer und in Form der Deckplättchen eingesetzt. Der mit Plexiglas zur Hälfte ausgefüllte, innen transparente Teil des Steckers, reichte insofern für die mikroskopische Beobachtung aus, als konvexgestaltete Objektive des Mikroskopes die Randbezirke des vaskularisierten Ohrkammerinnenraumes ohnehin nicht erfassen können. Im Gegensatz zu den üblichen Ohrkammermodellen wurden die Deckplättchen mit einer ungewöhnlichen Stärke von 1 mm gefertigt, um die Handhabung zu erleichtern. Zwar diente die achteilige Plexiglasohrkammer nach Matlaga der neuentwickelten als Vorbild, doch ließ sich mit der modifizierten Delrin<sup>R</sup>-Ohrkammer der Herstellungsprozeß insgesamt vereinfachen. Für die drei- bis vierstündige Narkosedauer zur Kunsthierzimplantation war es von besonderem Interesse, die Ohrkammer in einem Stück implantieren zu können. Dies war möglich, da das Modell mehrere Formteile integrierte, die in älteren Ohrkammertypen teilweise erst während der Operation zusammengesetzt werden mußten (46/54).

Das für die Kälberohren entwickelte Delrin<sup>R</sup>-Ohrkammermodell besaß darüberhinaus den Vorteil, unverändert auch in Kaninchenohren implantiert werden zu können. Das wurde durch die Abmessungen und die feste Verankerung der Kammer im Ohr mit Hilfe des Dacronnetzes erreicht.

Nachdem beim Kalb das terminale Strombett mikroskopierte worden war, sollte das modifizierte Ohrkammermodell mit geringerem personellen und operativen Aufwand auch an mehreren Tieren geprüft werden. Deshalb wurden insgesamt 75 Ohrkammern in Kaninchenohren implantiert und auf Biokompatibilität und Kapillareinsprossung, sowie deren morphologische und funktionelle Reaktionen getestet.

Bei der Herstellung dieser Ohrkammern wurde auf ein für derartige Zwecke bisher noch nicht benutztes Material, Polyoxymethylen (Delrin<sup>R</sup>), zurückgegriffen. Zum einen sollte die Ohrkammer für Langzeitstudien Verwendung finden, doch der nach Williams dafür geeignetste Stoff, das Metall Tantal, erschien in der Verarbeitung zu kompliziert und in der Beschaffung zu teuer (54/35). Zum anderen sollte ein biokompatibles, einfach zu bearbeitendes und leicht erhältliches Material gefunden werden, das gegebenenfalls mehrfach zur Implantation eingesetzt werden konnte. In verschiedenen tierexperimentellen und klinischen Studien wurde dieser Kunststoff getestet und für inert befunden (11/44). Die vorliegenden Ergebnisse bestätigen, daß auch die Delrin<sup>R</sup>-Ohrkammer als biokompatibel eingestuft werden konnte. Auch das Dacronnetz erwies sich unabhängig von Stärke und Durchmesser als gewebeverträglich, da es reizlos einheilte (47). Insbesondere bei den über längere Zeit beobachteten Kammern wurden keine Abstoßungsreaktionen auf diese Materialien gesehen. Trotz der Infektionsprophylaxe und steriler Operationsbedingungen konnte nicht verhindert werden, daß sich 18 der 75 Ohrkammern im Verlauf der ersten Woche sekundärinfizierten.

Die Implantation wurde im wesentlichen nach der von Wood beschriebenen Technik von der Ventralseite der Ohren durchgeführt (56). Zwei Mal sind die Ohrkammern von der Dorsalseite eingesetzt worden. Da sich, wie auch bei Sudmann und Clark, Probleme bei der Präparation wegen der dorsal verlaufenden Gefäße ergaben, wurde von dieser Technik Abstand genommen (49/16). Noch nicht in der Literatur vermerkt war die Insertion einer "round-table-chamber" ohne Dacron- oder andere Netze. Zwei auf diese Weise durchgeführte Versuche mußten wegen fehlender Stabilität der Kammer im Ohr abge-

brochen werden.

In 64,7 % der hier eingesetzten Kammern traten Gefäße der Endstrombahn makroskopisch sichtbar in Erscheinung. Sudmann erwähnte, daß in 151 der von ihm implantierten Ohrkammern, unter denen sich verschiedene Modelle befanden, 25 % Gefäße aufwiesen (49). Ansonsten wurden in der Literatur 70 bis 90 prozentige Erfolgsquoten angegeben (5/17/29/53). Möglicherweise waren diese Ergebnisse auf unterschiedliche Kriterien bei der Auswertung von Gefäßeinsprossungen zurückzuführen, so daß bei einigen Arbeitsgruppen sekundärinfizierte Ohrkammern nicht berücksichtigt und lediglich die Auftretenswahrscheinlichkeit von Gefäßen in der Ohrkammer nach komplikationslosem Einheilen betrachtet wurde. In den hier vorliegenden Ergebnissen sind all jene Ohrkammern mit in die Berechnung eingegangen, die am Ende der ersten postoperativen Woche keine Zeichen einer Sekundärinfektion aufwiesen und nicht innerhalb der ersten sieben Tage explantiert werden mußten.

Von den Kriterien, die bei der Gefäßinduktion und -erhaltung von Bedeutung sind, kommt dem Kammerspalt eine spezielle Rolle zu. Nims und Williams konstatierten, daß zum Einwachsen von Gefäßen in die Ohrkammer eine Mindestraumtiefe von 18  $\mu\text{m}$  eingehalten werden muß, da sonst gefäßlose Fibroblasten den Kammerspalt ausfüllten. Darüber hinaus hielten sie eine Raumtiefe von 25 bis 30  $\mu\text{m}$  zum Einwachsen von Gefäßen für optimal (41/53). Die Tatsache, daß in den hier vorliegenden Ergebnissen nur 50 % der eingesetzten 25  $\mu\text{m}$ -Kammern Gefäße zeigten, diese jedoch in 79 % bei den Kammern mit einer Innenraumtiefe von 50  $\mu\text{m}$  auftraten, schränkt diese Feststellung ein.

Über den Einfluß von verschiedenen Materialien zur Herstellung von Deckplättchen liegen keine Angaben in der Literatur vor. Da in den vorliegenden Resultaten bei der Verwendung von Plexiglas vier Mal häufiger Gefäßwachstum induziert wurde, als bei Kristallglasplättchen, scheint hiermit ein möglicher weiterer Faktor für die Induktion von Gefäßen vorzuliegen.

Während der Operation wurden in den Kammerspalt der 75 Ohrkammern alternativ drei verschiedene Flüssigkeiten oder Luft eingeschlossen, um deren Einfluß auf die Gewebsinduktion zu testen. Hierbei verteilte sich die Quote gefäßhaltiger Kammern gleichmäßig auf die Flüssigkeiten. Dagegen wurden in den Kammern, die nur Luft enthielten, keine Gefäße gesehen. Aus der Literatur ging hervor, daß zur Stimulation von Gefäßwachstum der Innenraum

mit einer Substanz gefüllt sein sollte. Unklar blieb, mit welcher dies im besten Fall zu geschehen habe. Zarem und Arfors achteten am Ende der Kammerimplantation darauf, daß Blut den Kammerspalt füllte, während Algire die Ansicht vertrat, zusätzliches Gewebe müsse mit der Kammer eingesetzt werden, um Gefäßwachstum zu stimulieren (57/7/37). Wagner applizierte Chloramphenicol-Augensalbe in den Kammerinnenraum und Sudmann tat eine Kochsalzlösung hinein mit und ohne Penicillinzusatz (51/49). Durch Aqua destillata und Cephalozin, zwei der Flüssigkeiten, die bei den hier vorliegenden Untersuchungen ausgewählt und nach Literaturdurchsicht für solche Zwecke noch nicht eingesetzt wurden, konnte ebenfalls Gefäßwachstum induziert und erhalten werden. Aus diesen Resultaten geht hervor, daß zur Stimulation von Gefäßwachstum auf Füllsubstanzen im Kammerspalt nicht verzichtet werden kann. Gestärkt wird diese These durch Leaf und Zarem und andere, die Luft im Kammerinnenraum für prognostisch ungünstig hielten (29/49/53). Aber auch eine flüssigkeitsgefüllte Ohrkammer allein garantierte nach Clark nicht notwendigerweise Gewebeinsprossung, da noch andere Faktoren, wie Temperatur, Flußvolumen, kapilläre Austauschprozesse und bestimmte räumliche Voraussetzungen in der Kammer den Prozeß der Angiogenese beeinflussen (12/14).

Mit den durchschnittlich 17 Tagen, die vom Zeitpunkt der Ohrkammerimplantation bis zum Erkennen der Gefäße im Innenraum der Kammermitte vergingen, wurde eine tägliche Wachstumsrate von 0,24 mm errechnet, die den in der Literatur angegebenen Werten entsprachen (13/17/19). Aus der in den Ergebnissen dargestellten Häufigkeitsverteilung wurde errechnet, daß insgesamt aus im Mittel 3,3 Löchern Gefäße in den Kammerinnenraum eintraten. In den Ohrkammern, in denen nur ein, zwei oder drei Löcher makroskopisch Gefäße zeigten, betrug die Beobachtungszeit weniger als 24 Tage, was die durchschnittliche Untersuchungsdauer der Kammern war. In diesen Fällen schien eine geringe Anastomosierung benachbarter Gefäße aus wenig Löchern, sowie verminderte Randschlingennetzbildung bei mechanischen Hindernissen oder Irritationen einen negativen Einfluß auf die Lebensdauer des neugebildeten Gewebes ausgeübt zu haben. Es konnte nicht im Einzelnen untersucht werden, unter welchen Umständen bestimmte Löcher den Kammerinnenraum füllten und wann nicht. Möglicherweise stellten kurze Zeit nach der Kammerimplantation aufgetretene Blutkoagel ein mechanisches Hindernis für die Gefäße dar, so daß ihnen der Weg in den Kammerspalt versperrt worden war.

Den dargestellten Bedingungen unterlagen die über einen längeren Zeitraum beobachteten Ohrkammern nicht, so daß der mikroskopische Verlauf des erkennbaren Granulationsgewebes in zwei Langzeitstudien über 10 Wochen hinaus dargestellt werden konnte. Sehr charakteristisch war die Entwicklung des Gefäßbettes im Verlauf weniger Wochen nach der Implantation. Zunächst wurde der Kammerinnenraum überschüssig mit Kapillaren ausgefüllt, deren Endothelschichten noch so verletzlich waren, daß diffuse über die ganze Fläche verteilte petechiale Blutungen mit Erythrozytenextravasationen auftraten. Im Zuge der Ausdifferenzierung des Gefäßbettes stabilisierte sich das Gefäßmuster, die Extravasate verschwanden und der Farbgrundton des Gewebes änderte sich. Die erhobenen Befunde stimmen mit Clark überein, der neugebildete Kapillaren als endotheliale Auswüchse präexistierender Gefäßendothelien beschrieb, die als blind endende Sprosse und mit Nachbargefäßen anastomosierend in Form von Plexus fortschritten. Zunächst würde ein indifferenten Kapillarplexus entstehen, der sich dann, je nach Druck- und Volumenverhältnissen, zu Arteriolen, Venolen, oder garnicht, ausdifferenzierte. Dabei verschwanden die zunächst übermäßig gebildeten Kapillaren und im Verlauf weniger Wochen entstünde ein relativ stabiler Plexus. Mit Hilfe des Delrin<sup>R</sup>-Ohrkammermodelles konnte auch nach dieser Phase der Stabilisierung eine langsame Verschiebung des Kammergewebes gegen den Uhrzeigersinn beobachtet werden. Dieser Formenwandel des an sich stabilen Gefäßbettes ist nach Clark auf eine Differenzierung und Entdifferenzierung von Gefäßstrukturen zurückzuführen, wie auch die Mikrophotogramme von Clark, Hitscher, et al. belegen (14/15). Möglicherweise liegt diesem Phänomen aber auch die von Clark festgestellte Wanderung der Ohrkammer in Richtung Ohrspitze zugrunde, da er annahm, eine Relativbewegung zwischen Kammer und Gewebe könnte auftreten (16).

Bei der Anwendung der neuentwickelten Delrin<sup>R</sup>-Ohrkammer war die Untersuchung ohne medikamentöse Beeinflussung durch Sedativa ein zentrales Anliegen, da durch Anästhetika die Mikrozirkulation in mannigfaltiger Weise beeinflusst werden kann (32). Typische morphologische Merkmale und funktionelle Zustände konnten daher am wachen Tier, wie sie auch von anderen Arbeitsgruppen beschrieben worden sind, nachvollzogen werden (6/55). Nicoll und Webb, die ihre Beobachtungen vorwiegend an Fledermausflügeln durchführten und die Endstrombahn unter Lebendbedingungen mikroskopierten, demonstrierten in ihren Lehrfilmen im wesentlichen Befunde, die von Naumann am gleichen Tiermodell

und auch in den vorliegenden Experimenten mit Hilfe der Delrin<sup>R</sup>-Ohrkammer bestätigt werden konnten (40/39). Die beschriebenen Phänomene der Vaskonstriktion, der Strömungsverlangsamung und schließlich der generalisierten kurzfristigen Stase, wie auch die Gefäßerweiterung nach Gabe verschiedener Medikamente und die Aufhebung der Spontanmotorik unterliegen bestimmten Einflüssen. In Abhängigkeit vom jeweiligen Gefäßbett, der Ansprechbarkeit und dem Durchmesser der entsprechenden Gefäße, reagieren glatte Muskelzellen auf Katecholamine im Sinne einer Konstriktion (3). Dieses physiologische Verhalten konnte in der Delrin<sup>R</sup>-Ohrkammer nachgewiesen werden. Noradrenalin und Adrenalin als  $\alpha$ -Rezeptoren aktivierende Monoamine wirken in der oben beschriebenen Art und Weise in subkutanem Gewebe, welches die Endstrombahn in einer Ohrkammer darstellt (48). Ein vasodilatierender Effekt durch Dihydralazin und Verapamil ist an dem Kaninchenohrkammermodell noch nicht verzeichnet worden, wohl aber die Reaktionen zum Beispiel auf Phenoxybenzamin, Phentolamin und Nikotinsäure als ähnlich wirkende Pharmaka (7). Auch die von Asano beschriebene Abwesenheit rhythmischer Fluktuationen konnte bestätigt werden (6). Die dargestellten pharmakologischen Auswirkungen basieren auf dem Wechselspiel zwischen  $\alpha$ - und  $\beta$ -Rezeptoren, deren Ansprechbarkeit in kleineren Gefäßen offenbar geringer zu sein scheint, als in größeren (8). Neben einem gefäßerweiternden Effekt durch Pharmaka kann eine Vasodilatation über Erwärmung ausgelöst werden. Als Ausdruck einer Eröffnung arteriovenöser Anastomosen und Arteriolen zur Steigerung des konvektiven Wärmetransportes bewirkte die Applikation von Rotlicht eine mikroskopisch sichtbare Zunahme der Gefäßdurchmesser und insgesamt eine bessere Perfusion des Ohrkammergewebes (22). Ein Einfluß der Sedativa Ketaminhydrochlorid und Xylazin im Vergleich zum pharmakologisch unbeeinflussten Zustand der Endstrombahn konnte nicht nachvollzogen werden und auch die Spontanmotorik blieb erhalten, möglicherweise als Ausdruck einer geringen Dosierung.

Um die hämodynamischen Auswirkungen gefäßaktiver Medikamente, Sauerstoff und Wärme nicht nur in der Ohrkammer zu prüfen, wurden bei den Kaninchen über arteriell gelegte Katheter Blutdruck- und Herzfrequenzmessungen vorgenommen. Es zeigte sich, daß die Ohrkammergefäße auf dieselben Einflüsse ebensoschnell ansprachen, wie eine Änderung der zentralen Kreislaufparameter eintrat. Dadurch ließ sich gleichzeitig die Wirksamkeit der

applizierten Dosen prüfen. Diese riefen, wenn Katecholamine verabreicht wurden, beim Kaninchen eine Anhebung des arteriellen Mitteldruckes hervor. Nach Gabe von Noradrenalin verlangsamte sich die Herzfrequenz, wohingegen sie bei Adrenalingabe zunahm. Damit konnten pharmakologische Auswirkungen, wie sie in der Literatur dargestellt sind, bestätigt werden. Hiernach kommt es durch Erhöhung des peripheren Widerstandes nach Gabe von Noradrenalin zum Anstieg des diastolischen und des systolischen Blutdruckes und reflektorisch zur Bradykardie. Bei höherer Konzentration von Adrenalin folgt hämodynamisch über vorwiegend  $\beta$ -1 und  $\alpha$ -sympathikomimetische Wirkung eine Anhebung des arteriellen Mitteldruckes und eine Zunahme der Herzfrequenz (2). Auf die Gabe von Dihydralazin reagierten die zentralen Kreislaufparameter im Sinne eines Blutdruckabfalles und einer Zunahme der Herzfrequenz, die als physiologische Gegenregulation erklärt werden kann (42). Verapamil wirkte sich ähnlich auf die Kreislauftsituation des Kaninchens aus. Auch hierunter sank der Blutdruck ab und die Herzfrequenz verminderte sich. Diese Phänomene sind durch eine periphere Widerstandserniedrigung durch Arteriolenenerweiterung hervorgerufen (20).

Eine zeitliche Analyse zwischen zentralen Druckverhältnissen und der Reaktion der Mikrozirkulation auf die Gabe von Medikamenten erscheint vor allem deswegen sinnvoll, weil beim Kalb mit Totalherzersatz das Herzzeitvolumen variiert werden kann und die Mikrozirkulation in ihrer Reaktivität unter kontrollierten Bedingungen untersucht werden könnte.

Weder auf die Endstrombahn, noch auf die zentralen Kreislaufparameter wirkte sich die Gabe von Sauerstoff aus. Möglicherweise war die zugeführte Dosis bei dieser Applikationsart zu gering.

Von Interesse waren neben der mikroskopischen Auswertung der Befunde an der Delrin<sup>R</sup>-Ohrkammer und der Überprüfung der zentralen Kreislauftsituation der Kaninchen auch Messungen an dem Ohrkammerngewebe. Die vor allem in der pädiatrischen Intensivmedizin benutzten  $PO_2$ -Elektroden boten sich zur Bestimmung des Sauerstoffpartialdruckes in Ohrkammern an (24). Nachdem an der Delrin<sup>R</sup>-Kammer im Kaninchenohr ein variables Verhalten in direkter Abhängigkeit zum Sauerstoffgehalt in der Atemluft des Tieres verzeichnet werden konnte, wäre durch das Ohrkammerngewebe auch erstmalig beim Kalb die Voraussetzung für derartige Messungen gegeben. Würde man neben den  $PO_2$ -

Messungen die Gefäßneubildungsrate exakt quantifizieren, die Kapillardichte und zum Beispiel die Erythrozytenfließgeschwindigkeit feststellen, so könnten bei vergleichenden Untersuchungen zwischen Kälbern vor und nach Kunstherzimplantation Aussagen über die Funktion der Mikrozirkulation getroffen werden. Bei hohem Sauerstoffgehalt im Gewebe wäre neben einer Abnahme der Erythrozytenfließgeschwindigkeit eine verminderte Dichte perfundierter Kapillaren und eine Abnahme der Angiogeneese zu erwarten (27/31/43).

Da im Anschluß an die Einpflanzung eines künstlichen Herzens wiederholte und kontinuierliche klinische Untersuchungen, Messungen der Makrohämodynamik und weitere Tests über Wochen erfolgen, unterliegt das Kalb besonderen Belastungen, so daß neben vitalmikroskopischen Beobachtungen des Ohrkammergewebes zusätzliche Meßverfahren eingesetzt werden sollten (10). Neben Bestimmungen des Sauerstoffdruckes im Gewebe der Kammer kommen Verfahren in Betracht, bei denen auf eine Sedierung verzichtet werden kann und die eine Erfassung des Blutflusses in der Ohrkammer erlauben. Mit Hilfe einer der Kammer aufgesetzten Laserdopplersonde könnten relative Änderungen der Perfusion im Endstrombahngewebe aufgezeichnet werden. Einen anderen Aspekt stellt die Regulierung der Antriebsmechanik des künstlichen Pumpsystems durch von der Peripherie mitgeteilte Durchblutungszustände dar, da eine dem Gewebe optimal angepaßte Blutversorgung das Endziel aller Bemühungen um die Herz- Kreislaufregulation darstellt.

## V. ZUSAMMENFASSUNG

Von den verschiedenen Möglichkeiten der Lebendbeobachtung kleinster Blutgefäße ist die sogenannte Ohrkammermethode ausgewählt worden, um über einen Zeitraum von mehreren Monaten die Mikrozirkulation untersuchen und Langzeitbeobachtungen bei Kälbern nach Totalherzersatz durchführen zu können. Dazu wurde eine Ohrkammer aus Delrin<sup>R</sup> derartig modifiziert, daß Implantationen nicht nur bei Kaninchen, sondern auch bei Kälbern möglich waren. Nachdem neun Ohrkammern bei diesen Tieren eingesetzt und erstmals der Nachweis von Endstrombahngewebe mikroskopisch erbracht worden war, erfolgte wegen des geringeren Aufwandes die Implantation von 75 Ohrkammern bei 38 Kaninchen. In 64,7 % der gewebeverträglichen Kammern wurde Gefäßwachstum induziert, unabhängig von den zum Zeitpunkt der Implantation eingefüllten flüssigen Substanzen (A. dest., NaCl, Cephalozin), jedoch häufiger in jenen Ohrkammern, bei denen die Raumtiefe nicht 25 µm (11 Kammern), sondern 50 µm (19 Kammern) betrug. Von den als Deckplättchen verwendeten Materialien wiesen Ohrkammern mit Plexiglasplättchen vier Mal häufiger Gefäßwachstum auf, als bei Kristallglasdeckplättchen. Durchschnittlich nach 17 Tagen traten die Gefäße mit einer Wachstumsgeschwindigkeit von 0,24 mm/Tag aus im Mittel 3,3 Kammerlöchern sichtbar in den Innenraum ein. Ein positiver Zusammenhang bestand zwischen der Anzahl der gefäßentsendenden Löcher und der Gesamtüberlebensdauer dieser Gefäße. Keine Tendenz ließ sich zwischen der Zeit von Ohrkammerimplantation bis zur Gefäßeinsprossung und dem Modus der Vollvaskularisierung erkennen. Nach Auftreten im Kammerspalt wurde die Entwicklung der terminalen Strombahn durchschnittlich 24 Tage lang beobachtet. Bei zwei Langzeituntersuchungen konnten Abläufe der Angiogenese, sowie typische morphologische und funktionelle Veränderungen mikroskopierte werden. Nach Gabe gefäßaktiver Pharmaka (Noradrenalin, Adrenalin, Dihydralazin und Verapamil) und Wärmeapplikation, wurden reaktive physiologische Vorgänge nachgewiesen und das Blutdruck- und Herzfrequenzverhalten gleichzeitig aufgezeichnet. Kein Effekt war durch Sauerstoffzufuhr und die Gabe von Sedativa (Ketaminhydrochlorid, Xylazin) zu registrieren. Mit Hilfe einer transkutanen Sauerstoffelektrode konnten  $PO_2$ -Messungen in der Delrin<sup>R</sup>-Ohrkammer durchgeführt und physiologische Werte unter normaler Ventilation und nach Anhebung des Sauerstoffdruckes in der Atemluft aufgezeichnet werden. Die Ergebnisse mit der modifizierten Kälberohrkammer und die mögliche Anwendung bei Kälbern nach Totalherzersatz werden diskutiert.

## VI. LITERATUR

- 1) Algire, G.H. : An adaption to the transparent chamber technique to the mouse. *J. nat. Cancer Inst.* 4, 1 (1943).
- 2) Allwood, M.J., Cobbold, A.F., Ginsberg, J. : The effects of intravenous infusion of norepinephrine, epinephrine and isoproterenol in man. *Brit. Med. Bull.* 19, 132 (1963)
- 3) Altura, B.M. : Chemical and humoral regulation of blood flow through the percapillary sphincter flow. *Microvasc. Res.* 3, 361-384 (1971).
- 4) Arfors, K.-E. : Mündliche Mitteilung, Uppsala, Schweden (1983).
- 5) Arfors, K.-E., Jonsson, J.A. and McKenzie, F.N. : A titanium rabbit ear chamber : Assembly, insertion and results. *Microvasc. Res.* 2, 516 (1970).
- 6) Asano, M. and Ohkubo, C. : Physiological and pathophysiological events of cutaneous microcirculation observed in the rabbit ear chamber. In : Tsuchiya, M., Wayland, H., Oda, M., Okazaki, I. (eds.): *Intravital observation of organ microcirculation. Excerpta Medica, Amsterdam-Oxford-Princeton*, 31-51 (1983).
- 7) Asano, M. : Microphotoelectric pletysmography in studying the cutaneous microcirculation. In : Tsuchiya, M., Asano, M., Oda, M. (eds.): *Basic aspects of microcirculation. Excerpta Medica, Amsterdam-Oxford-Princeton*, 47-60 (1982).
- 8) Bohr, D.F., Goulet, P.L. and Taquini, Jr., A.C. : Direct tension recording from smooth muscle of resistance vessels from various organs. *Angiology* 12, 478 (1961).
- 9) Branemark, P.-I. : Intravascular anatomy of blood cells in man. *Adv. Microcirc.* 1, 4 (1971).
- 10) Bücherl, E.S., Hennig, E., Baer, P., Frank, J., Lemm, W. and Zartnack, F. : Status of the artificial heart program in Berlin. *World J. Surg.* 9, 103-115 (1985).
- 11) Christiansen, T. : A new hip prothesis : preliminary report. *Acta Chir. Scand.* 135, 47 (1969).
- 12) Clark, E.R. : Growth and behavior of peripheral blood vessels. *Trans. Coll. Physicians Philad.* 4, 1 (1936).

- 13) Clark, E.R. and Clark, E.L. : Microscopic observations on growth of blood capillaries in living mammal. *Am. J. Anat.* 64, 251 (1939).
- 14) Clark, E.R. and Clark, E.L. : Microscopic observations on the extra-endothelial cells of living mammalian blood vessels. *Amer. J. Anat.* 66, 1 (1940).
- 15) Clark, E.R., Hitschler, W.R., Kirby-Smith, H.T., Rex, R.O. and Smith, J.H. : General observations on the ingrowth of new blood vessels into standardized chambers in the rabbit's ear, and the subsequent changes in the newly grown vessels over a period of months. *Anat. Rec.* 50, 129 (1931).
- 16) Clark, E.R., Kirby-Smith, H.T., Rex, R.O. and Williams, R.G. : Recent modifications in the method of studying cells and tissues in transparent chambers in the rabbit's ear. *Anat. Rec.* 47, 187 (1930).
- 17) Cliff, W.J. : Kinetics of wound healing in rabbit ear chambers : A time-lapse cinemicroscopic study. *Quart. J. Exp. Physiol.* 50, 79 (1965).
- 18) Duling, R. : Oxygen, metabolism and microcirculatory control. In : Kaley, G., Altura, B.M. (eds.) : *Microcirculation*. University Park Press, Baltimore, Vol. 2, 401-431 (1978).
- 19) Eriksson, E., Zarem, H.A. : Growth and differentiation of blood vessels. In : Kaley, G., Altura, B.M. (eds.) : *Microcirculation*. University Park Press, Baltimore, Vol. 3, 393-419 (1980).
- 20) Fleckenstein, A. : History of calcium antagonists. *Circ. Res.* 52 (1983).
- 21) Gaehtgens, P. : Mikrozirkulation. In : Busse, R. (Hrsg.): *Kreislaufphysiologie*. Thieme-Verlag, Stuttgart-New York, 71-103 (1982).
- 22) Golenhofen, K. : Haut. In : Schütz, E. (Hrsg.): *Physiologie des Kreislaufes* Bd. 1. Red. v. Bauereisen, E. Springer, Berlin Heidelberg-New York, 347-377 (1971).
- 23) Haddy, F.J. : Vasomotion in systemic arteries, small vessels and veins determined by direct resistance measurements. *Minn. Med.* 41, 162 (1958).
- 24) Huch, R., Lübbers, D.W., Huch, A. : Quantitative continuous measurement of partial oxygen pressure on the skin of adults and newborn babies. *Pflügers Arch. Ges. Physiol.* 337, 185 (1972).
- 25) Intaglietta, M. : Mündliche Mitteilung, San Diego/La Jolla, Kalifornien (1982).

- 26) Irwin, J.W. : Mündliche Mitteilung, Boston, Massachusetts (1982).
- 27) Knighton, D.R., Silver, I.A., Hunt, T.K. : Regulation of wound-healing angiogenesis - effect of oxygen gradients and inspired oxygen concentration. *Surgery* 90, 262 (1981).
- 28) Krogh, A. : The anatomy and physiology of capillaries. Yale University Press, New Haven, Conn. (1929).
- 29) Leaf, N. and Zarem, H.A. : Construction and use of a miniaturized rabbit ear chamber. *Microvasc. Res.* 2, 72 (1970).
- 30) Leeuwenhoek, van, A. : 65 th Missive opuscula selecta Neelandicorum de arte medica (int. ed.), 1, 37, 51 (1907).
- 31) Lindbom, L., Tuma, R.F. and Arfors, K.-E. : Influence of oxygen on perfused capillary density and capillary red cell velocity in rabbit skeletal muscle. *Microvasc. Res.* 19, 197 (1980).
- 32) Longnecker, D.E., Harris, P.D. : Anesthesia. In : Kaley, G. Altura, B.M. (eds.) : Microcirculation. University Park Press, Baltimore, Vol. 3, 333-369 (1980).
- 33) Malpighi, M. : Excerpts from 'De pulmonibus : Observationes anatomica.' In : Fulton, J.F. (ed.), Thomas, C.C. (publ.) : Selected readings in the history of physiology. Springfield, Ill., 68-71 (1966).
- 34) Matlaga, B.F., Salthouse, T.N. : The rabbit ear chamber : a unique in vivo model for the continous observation of implanted biomaterials. *Biomat., Med. Dev., Art. Org.*, 4, 359 (1976).
- 35) Matlaga, B.F. : Schriftliche Mitteilung, New Jersey, New Jersey (1981).
- 36) Maximow, A. : Experimentelle Untersuchungen über die entzündliche Neubildung von Bindegewebe. *Ziegler's Beiträge*, Supplement 5 (1902).
- 37) Merwin, R.M. and Algire, G.H. : Role of graft and host vessels in vascularization of grafts of normal and neoplastic tissue. *J. Natl. Cancer. Inst.* 17, 23 (1956).
- 38) Moore, R.L. : Adaption of the transparent chamber technique to the ear of the dog. *Anat. Rec.*, 64 387 (1936).
- 39) Naumann, HH. : Mikrozirkulation - Intravitalmikroskopisch. Farbtonfilm der Univ.-HNO-Klinik Würzburg (1960). Begleitveröffentlichung : *Arch.Ohr.-Nas.-Kehl.kh.* 176, 800 (1960).

40. Nicoll, F.A., Webb, P.L. : Subcutaneous blood flow in the bat's wing (1949). A series of three 16mm, sound, black and white, one-reel films (A-6229 - 231).
41. Pinn, J.C. and Inming, J.M. : Technical report : Chamber techniques to study the microvasculature. Microvasc. Res. 5, 105 (1973).
42. Palm, D., Hellenbrecht, D., Quiring, K. : Pharmakologie des noradrenergen und adrenergen Systems - Katecholamine, Sympathomimetika, Rezeptorenblocker, Antisymptotonika und andere Antihypertensiva. In: Fortschr. d. Pharmakol. u. Toxikol. u. d. generellen und speziellen Pharmakologie. Mannheim, Wien, Zürich, Bibliographisches Institut, 112-156 (1983).
43. Szwed, P.L. and Johnson, P.C. : The effect of oxygen on arteriolar red cell velocity and cell elongation in the rat cremaster muscle. Microvasc. Res. 12, 59 (1976).
44. Zoli, A. : A laboratory experiment on total hip prosthesis. Proc. Inst. Mech. Engrs., 181, 140 (1966/67).
45. Sandison, J.C. : A new method for the microscopic study of living growing tissues by the introduction of a transparent chamber in the rabbit's ear. Anat. Rec., 28, 281 (1924).
46. Sandison, J.C. : The transparent chamber of the rabbit's ear, giving a complete description of improved technique of construction and introduction and general account of growth and behavior of living cells and tissues as seen with the microscope. Am. J. Anat., 4, 441 (1926).
47. Sawyer, P.M., Stanczewski, B., Hoskin, G.P., Sophie, Z., Stillman, P.M. : In vitro and in vivo evaluation of Dacron velour and knit prostheses. J. Biomed. Mater. Res., 13, 937 (1979).
48. Sandison, J.C. and Sandison, P.M. : Cells and their control. Saunders, Philadelphia, 1-159 (1975).
49. Sundmann, E. : A novel titanium rabbit ear chamber for vital microscopy of bone tissue. Acta Orthop. Scand. Suppl., 160, 17 (1975).
50. Troms, P. : Über entzündliche Störungen des Kapillarkreislaufes bei Wundheilern. Virchows Arch. path. Anat. 74, 360 (1878).
51. Wagner, G. : Mündliche Mitteilung, Kopenhagen, Dänemark (1983).

- 52) Weidemann, H., Große-Siestrup, Ch., Hennig, E., Müller, K.-M., Bücherl, E.S. : Pathomorphologische Befunde nach Totalherzersatz bei langüberlebenden Kälbern. *Langenbecks Arch.Chir., Suppl. Chir. Forum*, 235 (1983).
- 53) Williams, R.G. : The transparent chamber method as applied to rabbit ears. In : Bourne, G.H. (ed.): *In vivo techniques in histology*. Williams and Wilkins, Baltimore, 113-136, (1967).
- 54) Williams, R.G. and Roberts, B. : An improved tantalum chamber for prolonged microscopic study of living cells in mammals. *Anat. Rec.*, 107, 359 (1950).
- 55) Wilson, H.C. : Some observations on the effect of drugs on the ear vessels of the unanaesthetized rabbit, as seen in the preformed-tissue-chamber. *J. Pharmacol. exp. Ther.*, 56, 96 (1936).
- 56) Wood, S., Jr., Lewis, R., Jr., Mulholland, J.H. and Knaack, J. : Assembly, insertion and use of a modified rabbit ear chamber. *Bull. Johns. Hopkins Hosp.* 119, 1 (1966).
- 57) Zarem, H.A. : Reestablishment of microvascular flow in transplanted tissues and organs. In : Malinen, T.I., Linn, B.S., Callahan, A.B. and Warren, W.D. (eds.): *Microcirculation, perfusion and transplantation of organs*. Academic Press, New York, 201-206 (1970).
- 58) Zweifach, B.W. : The character and distribution of the blood capillaries. *Anat. Res.*, 73, 475 (1939).

## LEBENS LAUF

|              |                                                                                          |
|--------------|------------------------------------------------------------------------------------------|
| 26. 08. 1960 | geboren in Hamburg<br>Vater : Kurt-Eberhard Lübbe<br>Mutter : Gabriele Lübbe, geb. Benke |
| 1961         | Umzug nach Dortmund                                                                      |
| 1963         | Umzug nach Hamburg                                                                       |
| 1966         | Besuch der Grundschule in Starnberg                                                      |
| 1969         | Besuch des Gymnasiums in Hamburg                                                         |
| 1974         | Besuch des Gymnasiums in Bremerhaven                                                     |
| 1978         | Abitur                                                                                   |
| 1979         | Beginn des Studiums der Humanmedizin<br>an der Freien Universität Berlin                 |
| 1981         | Ärztliche Vorprüfung                                                                     |
| 25. 06. 1985 | Approbation als Arzt                                                                     |





